

DANIELA FARKE

---

## Suturen und Synchondrosen am Hundeschädel

Ein Vergleich meso- und brachycephaler  
Rassen mittels Magnetresonanztomographie,  
Computertomographie und Histologie



### INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Grades eines **Dr. med. vet.**  
beim Fachbereich Veterinärmedizin  
der Justus-Liebig-Universität Gießen



*édition scientifique*   
**VVB LAUFERSWEILER VERLAG**

**Das Werk ist in allen seinen Teilen urheberrechtlich geschützt.**

**Die rechtliche Verantwortung für den gesamten Inhalt dieses Buches liegt ausschließlich bei dem Autor dieses Werkes.**

Jede Verwertung ist ohne schriftliche Zustimmung des Autors oder des Verlages unzulässig. Das gilt insbesondere für Vervielfältigungen, Übersetzungen, Mikroverfilmungen und die Einspeicherung in und Verarbeitung durch elektronische Systeme.

1. Auflage 2017

All rights reserved. No part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted, in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording, or otherwise, without the prior written permission of the Author or the Publishers.

1<sup>st</sup> Edition 2017

© 2017 by VVB LAUFERSWEILER VERLAG, Giessen  
Printed in Germany



*édition linguistique*  
**VVB LAUFERSWEILER VERLAG**

STAUFENBERGRING 15, D-35396 GIESSEN  
Tel: 0641-5599888 Fax: 0641-5599890  
email: [redaktion@doktorverlag.de](mailto:redaktion@doktorverlag.de)

**[www.doktorverlag.de](http://www.doktorverlag.de)**

Aus der Klinik für Kleintiere - Chirurgie (Neurologie)  
der Justus-Liebig-Universität-Gießen

Betreuer: Prof. Dr. Martin Schmidt

und dem

Institut der Anatomie, Histologie und Embryologie  
der Justus-Liebig-Universität-Gießen

Betreuer: Prof. Dr. Carsten Staszyk

## **Suturen und Synchronosen am Hundeschädel**

### **Ein Vergleich meso- und brachycephaler Rassen mittels Magnetresonanztomographie, Computertomographie und Histologie**

#### **INAUGURAL- DISSERTATION**

zur Erlangung eines Grades

Dr. med. vet.

beim Fachbereich Veterinärmedizin  
der Justus-Liebig-Universität Gießen

eingereicht von

**Daniela Farke**

Tierärztin aus Warstein

Gießen 2017

Mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin  
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Dekan: Prof. Dr. Dr. h. c. Martin Kramer

Gutachter:

Prof. Dr. Martin Schmidt

Prof. Dr. Carsten Staszyk

PD. Dr. Rainer Hospes

Tag der Disputation: 11.12.2017



Ich erkläre: Ich habe die vorgelegte Dissertation selbstständig und ohne unerlaubte fremde Hilfe und nur mit den Hilfen angefertigt, die ich in der Dissertation angegeben habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nicht veröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten.

## Inhaltsverzeichnis

<b>Abkürzungsverzeichnis .....</b>	<b>8</b>
<b>Abbildungsverzeichnis .....</b>	<b>11</b>
 <b>1. Einleitung .....</b>	 <b>15</b>
 <b>2. Literaturübersicht .....</b>	 <b>17</b>
<b>2.1 Anatomische Grundlagen des Hundeschädels .....</b>	<b>17</b>
2.1.1 Makromorphologie der Suturen .....	21
<b>2.2. Histologischer Aufbau der Suturen und Synchondrosen .....</b>	<b>22</b>
2.2.1 Histologie der Suturen .....	22
2.2.2. Histologie der Synchondrosen .....	23
<b>2.3. Embryologische Entwicklung des Hundeschädels .....</b>	<b>24</b>
2.3.1 Bildung von Neurocranium und Viscerocranium .....	25
2.3.2. Verknöcherung des Schädels .....	27
<b>2.4. Embryonale Entwicklung der Suturen .....</b>	<b>30</b>
2.4.1. Mechanismen des Fugenschlusses der Suturen .....	32
2.4.1.1. Einfluss der Dura mater auf die Entwicklung der Suturen .....	33
2.4.1.2. Signalinduktion des Suturenschlusses .....	35
<b>2.5. Embronale Entwicklung der Synchondrosen .....</b>	<b>39</b>
2.5.1. Mechanismen des Verschlusses der Synchondrosen .....	39
<b>2.6. Verschluss der Suturen und Synchondrosen und Beendigung des Schädelwachstums .....</b>	<b>40</b>
2.6.1. Zeitpunkt des Schlusses der Suturen/ Synchondrosen beim Menschen .....	40
2.6.3. Probleme und Störungen des Fugenschlusses beim Menschen .....	42
2.6.3.1. Apert-Syndrom .....	44

2.6.3.2. Crouzons- Syndrom.....	45
2.6.3.3. Pfeiffer- Syndrom.....	46
2.6.3.4. Saethre-Chatzen-Syndrom .....	46
<b>2.7. Anatomische Veränderungen der Schädelform beim Hund .....</b>	<b>47</b>
2.7.1. Zusammenhang zwischen Brachycephalie und Schädelwachstum.....	49
2.7.2. Kraniometrie zur Bestimmung des Schädeltypus .....	52
2.7.3. Klinische Probleme brachycephaler Rassen .....	54
2.7.4. Beurteilung des Fugenschlusses .....	55
2.7.5. Klinisch-Morphologische Untersuchungen zum Fugenschluss bei Hunden....	56
<b>2.8. Ziel der Studie .....</b>	<b>57</b>
 <b>3. Material und Methoden.....</b>	 <b>57</b>
3.1 Untersuchungsgut.....	57
3.2. Entnahme der Oberschädel und Fixierung .....	57
3.3. Voruntersuchungen mittels CT und MRT .....	58
3.3.1. Bewertung der Suturen und Synchondrosen im CT.....	60
3.3.2. Bewertung der Suturen und Synchondrosen im MRT.....	61
3.4. Entnahme der Suturen und der Synchondrosen am Schädelknochen .....	62
3.5 Entkalkung und Einbettung in Paraffin.....	65
3.6 Herstellung der Paraffinschnitte und Färbungen .....	67
 <b>4. Statistische Auswertung .....</b>	 <b>67</b>
 <b>5. Ergebnisse .....</b>	 <b>68</b>
<b>5.1. Histologie .....</b>	<b>68</b>
5.1.1. Zusammenfassende Analyse der histologischen Daten .....	68
5.1.2. Individuelle Suturen Beurteilung in der Histologie .....	69
5.1.3. Individuelle Synchondrosen Beurteilung in der Histologie .....	71

<b>5.2. Magnetresonanztomographie</b> .....	72
5.2.1. Zusammenfassende Analyse in der Magnetresonanztomographie .....	72
5.2.2. Zusammenfassende Beurteilung der Suturen in der Magnetresonanztomographie .....	73
5.2.3. Individuelle Beurteilung der Suturen in der Magnetresonanztomographie.....	73
5.2.4. Individuelle Beurteilung der Synchondrosen in der Magnetresonanztomographie .....	74
5.2.5. Übereinstimmung der Untersucher in der Magnetresonanztomographie.....	76
<b>5.3. Computertomographie</b> .....	76
5.3.1. Zusammenfassende Analyse in der Computertomographie .....	76
5.3.2. Zusammenfassende Beurteilung der Suturen in der Computertomographie ..	77
5.3.3. Individuelle Suturenbeurteilung in der Computertomographie .....	78
5.3.4. Zusammenfassende Beurteilung der Synchondrosen in der Computertomographie .....	80
5.3.5. Individuelle Beurteilung der Synchondrosen in der Computertomographie ....	80
5.3.6. Übereinstimmung der Untersucher in der Computertomographie.....	80
<b>5.4. Einfluss des Alters und der Gruppe auf die Fusion der Suturen und Synchondrosen</b> .....	81
 <b>6. Diskussion</b> .....	83
6.1. Beurteilung der Suturenmorphologie .....	83
6.2. Beurteilung der Sensitivität und Spezifität von Suturen im MRT und CT .....	84
6.3. Beurteilung der Sensitivität und Spezifität von Synchondrosen im MRT und CT	86
6.4. Bedeutung nicht detektierbarer Suturen in der Histologie.....	86
6.5. Erkenntnisse des Interobserververgleichs .....	87
6.6. Bedeutung des Alters hinsichtlich des Fugenschlusses .....	87
6.7. Bedeutung der Brachycephalie hinsichtlich des Fugenschlusses .....	88
 <b>7. Zusammenfassung</b> .....	89

<b>8. Summary .....</b>	<b>90</b>
-------------------------	-----------

<b>9. Quellenangaben.....</b>	<b>91</b>
-------------------------------	-----------

## Abkürzungsverzeichnis

<b>BMP</b>	bone morphogenic protein
<b>BMP 3</b>	bone morphogenic protein 3
<b>BMP 4</b>	bone morphogenic protein 4
<b>BMP-Smad</b>	bone morphogenic protein-smad-Signalkaskade
<b>BO</b>	Synchondrosis basioccipitalis
<b>CBFA-1</b>	runx related transcription factor 2
<b>CT</b>	Computertomographie
<b>DNS</b>	Desoxyribonucleinsäure
<b>EMT</b>	Epithel to mesenchymal transition
<b>FGF</b>	fibroblast growth factor
<b>FGF 1</b>	fibroblast growth factor 1
<b>FGF 2</b>	fibroblast growth factor 2
<b>FGF 4</b>	fibroblast growth factor 4
<b>FGF 8</b>	fibroblast growth factor 8
<b>FGFR</b>	fibroblast growth factor receptor
<b>FGFR1</b>	fibroblast growth factor receptor 1
<b>FGFR2</b>	fibroblast growth factor receptor 2
<b>Fov</b>	field of view
<b>GH</b>	growth hormon
<b>IGF-1</b>	Insulin like growth factor 1
<b>IS</b>	Synchondrosis intersphenoidalis
<b>KI</b>	Konfidenzintervall >95%

<b>M</b>	Männlich
<b>mm</b>	Millimeter
<b>MAP</b>	mitogen activated protein
<b>MK</b>	Männlich kastriert
<b>MRT</b>	Magnetresonanztomographie
<b>Msx1</b>	Msx1-Gen
<b>Msx2</b>	Msx2-Gen
<b>Nb</b>	Nicht bekannt
<b>PBS</b>	Phosphatgepufferter Salzlösung
<b>PTHrP</b>	Parathyroid hormone related Peptide
<b>S1</b>	Sutura interfrontalis
<b>S2</b>	Sutura coronalis sinister
<b>S3</b>	Sutura coronalis dexter
<b>S4</b>	Sutura saggitalis/ interparietalis
<b>S5</b>	Sutura sphenofrontalis sinister
<b>S6</b>	Sutura squamosa sinister
<b>S7</b>	Sutura sphenofrontalis dexter
<b>S8</b>	Sutura squamosa dexter
<b>S9</b>	Sutura parietointerparietalis
<b>S10</b>	Sutura parietooccipitalis/ lamboidea sinister
<b>S11</b>	Sutura parietooccipitalis/ lamboidea dexter
<b>S12</b>	Sutura palatina media
<b>SDF-1</b>	stromal derived factor 1
<b>SE</b>	Synchondrosis sphenothmoidalis
<b>Shh</b>	sonic hedgehog
<b>Sox9</b>	Transskriptionsfaktor sox9
<b>SPP-1</b>	signal peptid peptidase 1

<b>TGF-β</b>	Transforming growth factor -β
<b>TGF-β2</b>	tissue growth factor -β2
<b>TGF-β3</b>	tissue growth factor -β3
<b>TWIST 1</b>	Transskriptionsfaktor Twist-related protein 1

<b>W</b>	Weiblich
<b>Wnt</b>	Wnt Proteine

<b>z.B.</b>	zum Beispiel
<b>z.T.</b>	zum Teil
<b>μm</b>	Micrometer



## Abbildungsverzeichnis

<b>Abbildung 1.:</b> Links laterale Ansicht des Hundeschädels (Aus: Evans, Millers Anatomy of the dog 4th ed., 1993). .....	18
<b>Abbildung 2.:</b> Mediale Ansicht des Hundeschädels (Aus: Evans, Millers Anatomy of the dog 4th ed., 1993).....	19
<b>Abbildung 3.:</b> 3D CT- Rekonstruktion eines 5 Wochen alten Dackelschädels in dorsaler Ansicht(A), frontaler Ansicht(B), links laterale Ansicht (C) und caudale Ansicht (D).....	21
<b>Abbildung 4.:</b> Schematische Darstellung einer Suture (modifiziert nach ZHAO 2015). .....	22
<b>Abbildung 5.:</b> Darstellung der Ossifikation innerhalb einer Synchondrose.....	23
<b>Abbildung 6.:</b> Schematische Darstellung der embryologischen Entwicklungen am Mesoderm (modifiziert nach SCHNORR 2006). .....	25
<b>Abbildung 7.:</b> Darstellung des Chondrocraniums in dorsaler Ansicht (Evans: Millers Anatomy of the dog 4th ed., 1993). .....	27
<b>Abbildung 8.:</b> Darstellung der verschiedenen Ossifikationsformen am Hundeschädel (Evans: Millers Anatomy of the dog 4th ed). .....	28
<b>Abbildung 9.:</b> Embryonale Ursprungsgewebe der Schädelknochen und der Suturen (MISHINA und SNIDER 2014). Blau zeigt einen Ursprung aus der Neuralleiste, pink einen Ursprung aus dem paraxialen Mesoderm an. ....	31
<b>Abbildung 10.:</b> Schematische Darstellung der Verteilung von Substanzen im Suturspalt während des Fugenschlusses. ....	32
<b>Abbildung 11.:</b> Schematische Darstellung der Verteilung und Interaktion von FGFR1 und 2, CBFA1 und TWIST innerhalb des Suturspaltes.....	35
<b>Abbildung 12.:</b> Schematische Darstellung der Signalinduktion (Opperman 2000)...	37

- Abbildung 13.:**Schematische Darstellung der Bedeutung von TGF- $\beta$ 1, 2 und 3, MSX1 und 2, BMP-4, FGF4 und FGFR1 und 2 für die Entwicklung der Sutura coronalis (Opperman 2000). ..... 38
- Abbildung 14.:**Darstellung der verschiedenen Schädeldeformationen in Abhängigkeit der jeweils prä-matur fusionierten Suture. Müller 1997. .... 43
- Abbildung 15.:** T 2 gewichtete, midsaggitale MRT Sequenz über den Schädel eines A) 4 Monate alten mesocephalen Mischlings, B) 1 Monat alter Boxer..... 49
- Abbildung 16.:**Computertomographie eines 4,5 Monate alten Schädels eines Deutschen Schäferhundes im Knochenfenster. Midsaggitale Ansicht(A), dorsale Ansicht (B), rostrale Ansicht (C) und caudale Ansicht (D). .... 60
- Abbildung 17.:** Magnetresonanztomographie in T2 gewichteten Sequenzen eines 4,5 Monate alten Schädels eines Deutschen Schäferhundes. Dorsale Ansicht (A), midsaggitale Ansicht (B), rostral-transversale Ansicht (C) und caudal-transversale Ansicht (D). .... 62
- Abbildung 18.:**Computertomographisch basierte 3D Rekonstruktion eines 5 Wochen alten Dackelschädels in der dorsalen Ansicht (A), frontalen Ansicht (B), links laterale Ansicht (C) und caudale Ansicht (D)..... 64
- Abbildung 19.:**Foto eines Medianschnittes durch die Schädelbasis eines neonatalen Zwergdackels. .... 64
- Abbildung 20.:** Foto eines Medianschnittes durch die Schädelbasis eines neonatalen Zwergdackels mit korrespondierendem histologischen Schnitt der Synchronchondrosis intersphenoidalis in Masson Goldner Trichrom in 4-facher Vergrößerung. .... 66
- Abbildung 21.:**Kreisdiagramm zur Darstellung des Status der Suturen und Synchronchondrosen in der Histologie. .... 68
- Abbildung 22.:**Histologische Schnitte Masson Goldner Trichrom gefärbt in der 20-fachen Vergrößerung. A) Sutura saggitalis eines 1 Tag alten Bernhardiners. B) Sutura interfrontalis eines 10 Jahre alten Galgo espanols..... 69

**Abbildung 23.:**Balkendiagramm zur individuellen, prozentualen Auswertung der offenen, geschlossenen und nicht beurteilbaren Synchondrosen..... 70

**Abbildung 24.:**Histologische Schnitte in Masson Goldner Trichrom gefärbt und in 20-facher Vergrößerung: A) offene Synchondrosis basioccipitalis eines neonatalen Chihuahuas mit durchgängigem Knorpelgewebe innerhalb der Synchondrose. B) partiell schließende Synchondrosis intersphenoidalis eines 5 Monate alten brachycephalen Mischlings..... 71

**Abbildung 25.:**Balkendiagramm zur individuellen, prozentualen Auswertung der offenen, geschlossenen und nicht beurteilbaren Synchondrosen der Schädelbasis in der Histologie..... 72

**Abbildung 26.:**Säulendiagramm zur Darstellung der prozentualen Sensitivität und Spezifität der Suturen und Synchondrosen in Abhängigkeit der jeweiligen Observer in der Magnetresonanztomographie..... 73

**Abbildung 27.:**Säulendiagramm zur Darstellung der prozentualen Sensitivität und Spezifität der Suturen und Synchondrosen in Abhängigkeit der jeweiligen Observer in der Computertomographie..... 78

**Tabelle 1.:** Verknöcherungsform der einzelnen Knochen des Splanchoocraniums und Chondrocraniums.....30

**Tabelle 2.:** Ausgewählte kranio-metrische Messpunkte am Schädel (modifiziert nach EVANS, 1993). ..... 53

**Tabelle 3.:** Daten der Hunde, deren Schädel mittels CT und MRT gescannt wurden und von denen Proben für die weiteren histologischen Untersuchungen entnommen wurden..... 58

**Tabelle 4.:** Für die Histologie entnommene Einzelproben der Suturen und Synchondrosen und ihre zugehörigen Knochen. .... 65

**Tabelle 5.:** MRT Sensitivität und Spezifität in Bezug auf die Beurteilbarkeit der Suturen und Synchondrosen für beide Untersucher..... 75

**Tabelle 6.:** CT Sensitivität und Spezifität in Bezug auf die Beurteilbarkeit der Suturen und Synchondrosen für beide Untersucher. .... 79

**Tabelle 7.:** Darstellung des Einflusses des Alters und der Schädelkonformation (Gruppe) der Suturen und Synchondrosen. .... 81

## 1 Einleitung

Der Schädel besteht aus dem Viscerocranium und dem Neurocranium, letzteres beinhaltet das Gehirn und wird von dorsal von den Calvaria und von ventral durch die Schädelbasis gebildet (EVANS, 1993). Die Schädelbasis beeinflusst das Wachstum von Viscerocranium und Neurocranium maßgeblich durch die hier liegenden Wachstumsfugen, welche als Synchronosen bezeichnet werden. Das Schädelwachstum und die daran beteiligten Suturen werden mechanisch durch die Expansion des Gehirns stimuliert. Des Weiteren übt auch die Dura mater einen Einfluss auf die Entwicklung der Suturen aus (MISHINA und SNIDER 2014, OLGE 2004).

Durch die Domestikation und die Züchtung verschiedener Hunderassen hat der Hund über die Zeit verschiedene phänotypische Veränderungen erfahren, die sich insbesondere im Bereich des Schädels manifestieren (POLLINGER et al., 2005). Inwieweit extreme Schädelformen wie die Brachyzephalie als pathologische Veränderungen zu betrachten sind, ist noch weitestgehend unerforscht. Veränderungen auf Genomebene können jedoch bereits nachgewiesen werden, die den Verdacht eines pathologischen Geschehens bestätigen und die Interpretation der morphologischen Veränderungen als „rassetypisch“ widerlegen (SCHOENEBECK et al., 2012). Hierbei sind die Wachstumsprozesse im Bereich der Basis cranii und der Calvarien durch die daran beteiligten Synchronosen und Suturen von entscheidender Bedeutung bei der Entstehung der Brachyzephalie. In der Humanmedizin existieren viele Untersuchungen zur Ossifikation der Synchronosis sphenoccipitalis, welche maßgeblich am longitudinalen Wachstum der Schädelbasis beteiligt ist (MAO und NAH, 2004). Zur Beurteilung der Ossifikation der Synchronosen existieren diverse Möglichkeiten. Dazu zählen die makroskopische Beurteilung an Schädelpräparaten und verschiedene Arten der Bildgebung wie Röntgen, Computertomographie (CT) oder Magnetresonanztomographie (MRT) (POWELL und BRODIE, 1963; OKAMOTO et al., 1996; NAKAMURA et al., 1999; SHIRLEY und JANTZ, 2011). Aktuelle magnetresonanztomographische Untersuchungen zum Zeitpunkt des Fugenschlusses zeigen deutliche Unterschiede im Vergleich von meso- und brachycephalen Rassen (SCHMIDT 2013).

Des Weiteren sind in der humanmedizinischen Literatur verschiedene Formen der Craniosynostosen und den damit zusammenhängenden Schädelverformungen beschrieben (MÜLLER 1997). Bei syndromalen Craniosynostosen können zudem auch Veränderungen des Gehirns wie z.B. Ventriculomegalie, oder Chiari ähnliche Malformation Typ 1 vergesellschaftet sein (STRAHLE 2011, RAYBAUD 2007).

In der Literatur existieren keine Angaben zur morphologischen, oder Histologischen Beschreibung der Suturen beim Hund. Ein Ziel dieser Studie ist es somit, die Suturen am caninen Hundeschädel zu beschreiben und auch auf Veränderungen in Rahmen ihrer Entwicklung bzw. des Fugenschlusses hin zu untersuchen. Des Weiteren soll im Rahmen dieser Studie die Sensitivität und Spezifität der Untersuchung von Suturen und Synchondrosen in der Magnetresonanztomographie und der Computertomographie ermittelt werden. Zur endgültigen Beurteilung der Wachstumsfugen (Synchondrosen und Suturen) wird die Histologie herangezogen. Die dieser Studie zugrunde liegende Arbeitshypothese ist, dass sich die Suturen und Synchondrosen bei brachycephalen Hunden früher schliessen und somit zu Schädelverformungen führen. Zudem besteht die Annahme dass es im Rahmen dieser Schädeldeformationen, ähnlich wie bei syndromalen Craniosynostosen beim Menschen, zu sekundären Veränderungen im Gehirn kommt. Ein weiteres Ziel der Studie ist somit die Untersuchung des Einflusses der brachycephalen Schädelkonformation auf den Schluss der Suturen und Synchondrosen.

## 2 Literaturübersicht

### 2.1 Anatomische Grundlagen des Hundeschädels

Die knöchernen Anteile des Hundeschädels lassen sich entsprechend ihrer Entwicklung und Funktion in das Viscerocranium und das Neurocranium unterteilen (EVANS 1993, KÖNIG 2009). Beide Teile werden aus Einzelteilen zusammengesetzt, die sich aus mehr oder weniger isolierten Verknöcherungsinselformen entwickeln, die schließlich Kontakt mit anderen Primordien herstellen, und zu einer solitären Einheit verschmelzen. Dabei werden auch unterschiedliche Schädelhöhlen und Gänge gebildet. Das Viscerocranium bildet einerseits die Nasenhöhlen und begrenzt gleichzeitig mit dem ventralen Anteil das Cavum orale nach dorsal. Das außen gelegene Nasendach wird vom Os nasale und Os frontale gebildet. Die Seitenwände der Nasenhöhle bestehen aus dem Os maxillare, -lacrimale, -zygomaticum und -incisivum. Ventral wird die Nasenhöhle durch das Os palatinum und dem beidseits lateral liegenden Processus palatinus der Maxilla gebildet (EVANS 1993, KÖNIG 2009). Die Processi maxillares verbinden sich mittig im rostralen, die Ossa palatinae im caudalen Anteil des harten Gaumens über die gleichnamige Sutura palatina mediana miteinander. Über die Sutura palatomaxillaris bzw. Sutura palatina transversa sind die Processi der Maxilla mit dem Os palatinum verbunden (EVANS 1993, KÖNIG 2009). Des Weiteren bilden auch der Vomer und das Os incisivum einen Teil des Nasenbodens bzw. Gaumendaches.

Der Pharynx wird durch das Os pterygoideum, Os palatinum, Os sphenoidale, sowie den Vomer knöchern von der Schädelhöhle (Cavum cranii) abgegrenzt. Innerhalb der Nasenhöhle befinden sich die Concha nasalis dorsalis und ventralis, welche die Nasenhöhle in den oberen, mittleren und unteren Nasengang aufteilen. Bis auf den Vomer sind alle Knochen des Gesichtsschädels paarig angelegt. Die Verbindung der verschiedenen Knochenplatten erfolgt über bindegewebige Suturen (Abbildung 1 und 2) (EVANS 1993, KÖNIG 2009).

Das Neurocranium beinhaltet das Cavum cranii mit dem darin liegenden Gehirn. Das Cavum cranii ist von der Nasenhöhle durch die Lamina cribrosa des Os ethmoidale getrennt. Dorsal an das Os ethmoidale grenzen über die Sutura frontoethmoidalis die

paarig angelegten Ossa frontalia an, welche über die Sutura interfrontalis miteinander verbunden sind. Das Os frontale steht mit dem Os nasale, dem Os maxillare und dem Os lacrimale über die Sutura frontonasalis, Sutura frontomaxillaris und Sutura lacrimalis in Verbindung. Nach ventral bestehen Verbindungen zum Os palatinum und Os sphenoidale über die Sutura frontopalatina und die Sutura sphenofrontalis. Nach caudal ist das Os frontale über die Sutura frontoparietalis bzw. Sutura coronalis mit dem Os parietale verbunden (Abbildung 1 und 2).

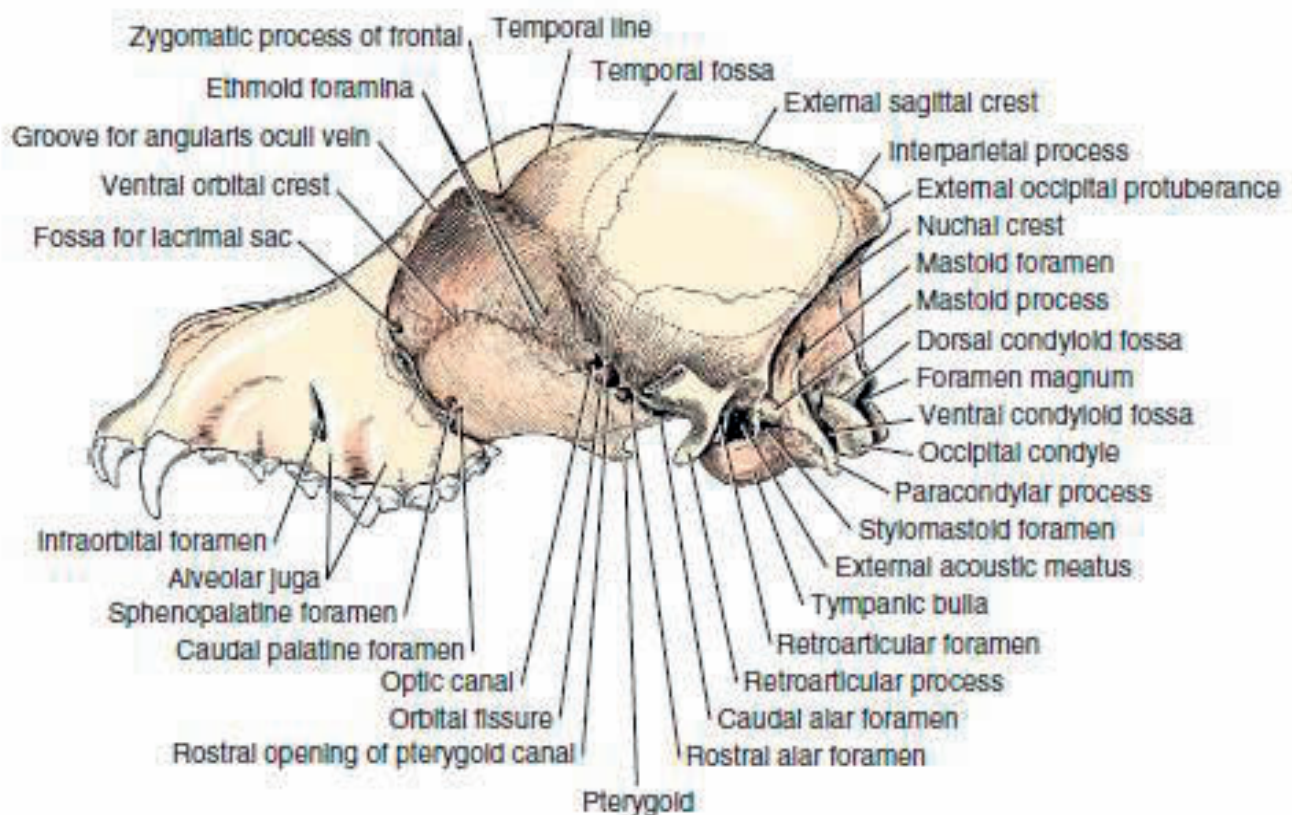
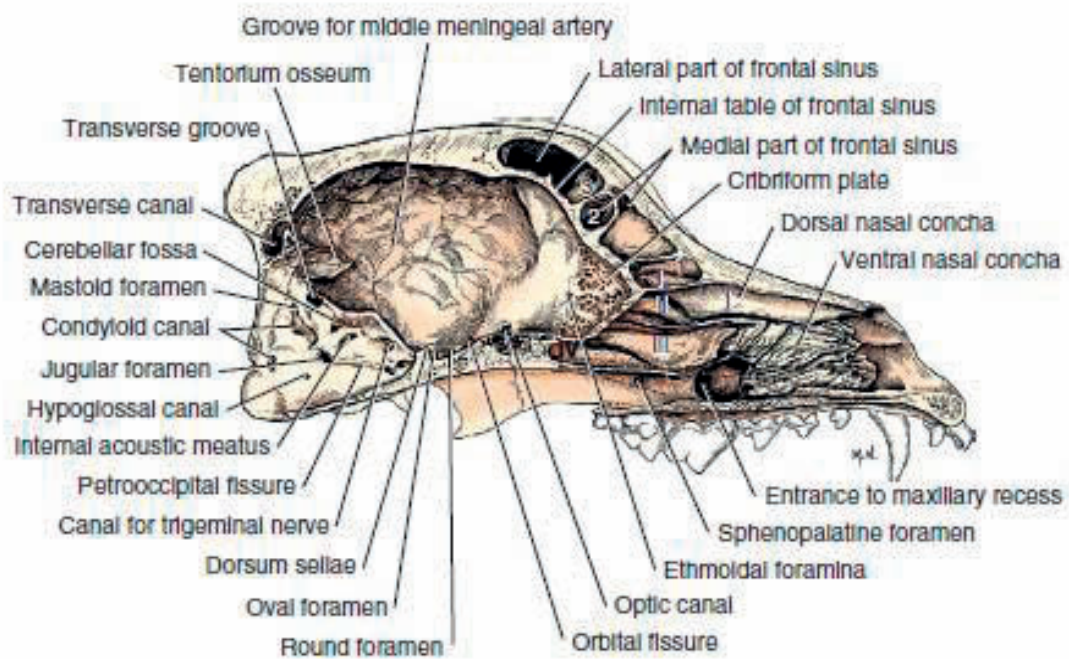


Abbildung 1.: Links laterale Ansicht des Hundeschädels (Aus: Evans, Millers Anatomy of the dog 4th ed., 1993).



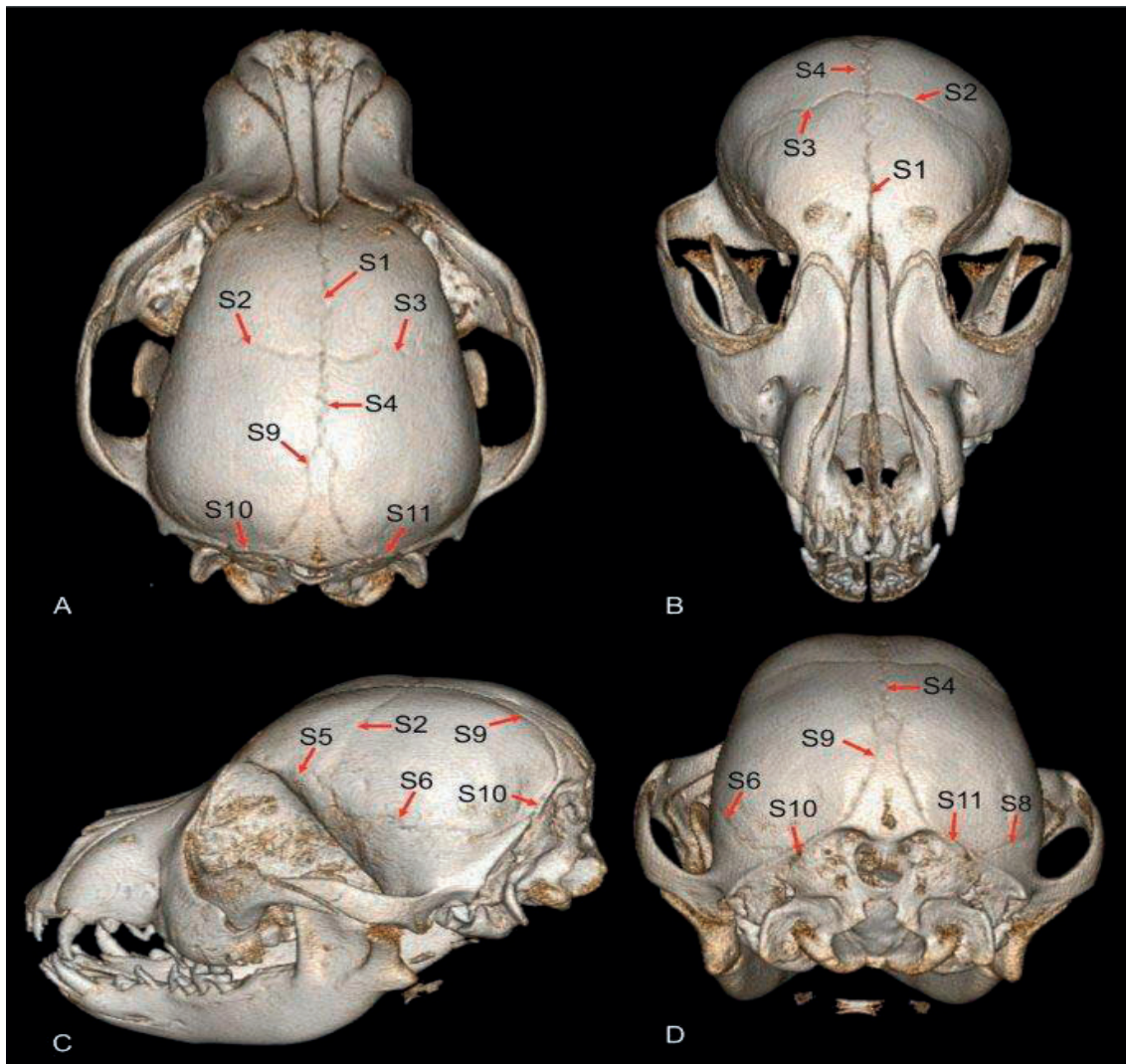


**Abbildung 2.: Mediale Ansicht des Hundeschädels (Millers Anatomy of the dog 4th ed., 1993).**

Das Os frontale wird in der Sutura coronalis von dem Os parietale überlappt. Die Ossa parietales sind über die Sutura sagittalis im rostralen Anteil miteinander verbunden. Caudal liegt zwischen den Ossa parietales der Processus interparietalis des Os occipitale und bildet so beidseits die Sutura parietointerparietalis. Des Weiteren besteht nach caudal die Verbindung zum Os occipitale über die Sutura occipitoparietalis bzw. Sutura lambdoidea, hier findet sich parallellaufend zusätzlich die dem Os occipitale zugehörige Crista nuchae. Nach ventral ist das Os parietale zum einen von der Pars squamosa des Os temporale überlappt und bildet die Sutura squamosa, zum anderen ist es durch die Sutura parietosphenoidalis mit dem Os sphenoidale verbunden. Das Os occipitale ist ein unpaariger Knochen und stellt die caudale Begrenzung des Cavum cranii dar. Es besteht aus einer Pars squamosa, einer Pars lateralis und einer Pars basilaris. Die Pars squamosa des Os occipitale ist mit der Pars petrosa und der Pars squamosa des Os temporale durch die Sutura petrooccipitalis und die Sutura occipitosquamosa verbunden. Die Pars lateralis bringt die beiden Condyli occipitales hervor, welche die Gelenkfläche zum Atlas darstellen. Die Pars basilaris bildet das caudale Drittel der Schädelbasis. Des Weiteren bestehen bindegewebige Verbindungen zwischen dem caudalen Anteil der Pars squamosa, des

Os temporale und dem Os sphenoidale in Form der Sutura sphenosquamosa und im rostralen Anteil zum Os zygomaticum in Form der Sutura temporozygomatica. Ventral bildet die Pars tympanica mit der Pars basilaris des Os occipitale die Fissura tympanooccipitalis, in dessen Tiefe sich die Synchondrosis petrooccipitalis zwischen dem Os petrosum und der Pars petrosa, des Os temporale findet. Das Os sphenoidale besteht aus dem Praesphenoid und dem Basisphenoid, beide bestehen aus einem Corpus und jeweils zwei Alae. Sie bilden die rostralen zwei Drittel der Schädelbasis zwischen dem Os ethmoidale und dem Os occipitale. Das Os praesphenoidale grenzt mit der Synchondrosis sphenoeethmoidalis rostral an das Os ethmoidale und mit der Sutura vomerosphenoidalis an den Vomer an. Nach caudal ist es mit dem Os basisphenoidale über die Synchondrosis intersphenoidalis verbunden. Das Basisphenoid begründet mit seinem Corpus die mittlere Schädelgrube, in welcher die Hypophyse in eine knöcherne Ausbuchtung eingelassen ist. Die mittlere Fossa ist nach rostral durch das Tuberculum sellae begrenzt, welches an der Grenze zwischen Prae- und Basisphenoid liegt. Die Fossa hypophysealis ist caudal durch das Dorsum sellae begrenzt. Die Alae des Basisphenoids bilden mit den umliegenden Knochen die Sutura sphenopalatina (mit dem Os palatinum), die Sutura sphenofrontalis (mit dem Os frontale) und die Sutura sphenoparietalis (mit dem Os parietale). Die Fissura orbitalis findet sich zwischen den Alae des Prae- und des Basisphenoids. Die Schädelbasis, der ventrale Anteil des Neurocraniums, besteht also aus dem Os praesphenoidale, Os basisphenoidale und der Pars basilaris des Os occipitalis, sowie deren Knorpelverbindungen, den Synchondrosen (Abbildung 1 und 2) (EVANS 1993, KÖNIG 2009).

### 2.1.1 Makromorphologie der Suturen



**Abbildung 3.: 3D CT- Rekonstruktion eines 5 Wochen alten Dackelschädels in dorsaler Ansicht(A), frontaler Ansicht(B), links laterale Ansicht (C) und caudale Ansicht (D). S1= Sutura interfrontalis, S2/3= linke und rechte Sutura coronalis, S4= Sutura sagittalis, S5/7= linke und rechte Sutura parietointerparietalis, S6/8= linke und rechte Sutura squamosa, S9= Sutura parietointerparietalis, S10/11= linke und rechte Sutura lamboidea.**

Beim Menschen finden sich in der Literatur wenige Beschreibungen des anatomischen Verlaufes der Suturen. Die Sutura sagittalis, interfrontalis und coronales verlaufen als Wachstumsfugen und Artikulationsflächen zwischen den Knochenplatten des Schädels in Kurvenlinien. Die interparietalen Suturen zeigen eine hohe Variabilität zwischen den Individuen, ohne definitiv festgelegten Kurvenverlauf (Abbildung 3) (SKRZAT 2004).

## 2.2. Histologischer Aufbau der Suturen und Synchondrosen

### 2.2.1 Histologie der Suturen

Suturen sind am vor allem Schädel auftretende Knochenverbindungen. Sie gehören zu den Articulationes fibrosae, die nach Beendigung des Schädelwachstums nicht knöchernen durchbauen, sondern über eine Brücke aus Bindegewebe miteinander verbunden sind (Syndesmosen). Diese Art der Knochenverbindung findet sich vor allem zwischen Knochenplatten die desmal ossifizieren (RÜSSE und SINOWATZ, 1998; MORRISS-KAY und WILKIE, 2005). Strukturell bestehen die Suturen aus Kollagenfasern, Fibroblasten und Osteoblasten. Die Zahl der Zellen und die Struktur des Kollagens wandeln sich im Verlauf der Entwicklung der Suture. In offenen Suturen zeigen sich weite Suturespalten, die Kollagenfasern sind ungeordnet, oder im  $45^\circ$  Winkel zur Suturekante angeordnet. Zudem zeigen sich vermehrt Osteoblasten im Bereich der knöchernen Kanten (Abbildung 4). Fusionierende Suturen weisen deutlich engere Suturespalten und weniger Osteoblasten auf, die kollagenen Fasern ordnen sich hier in einem  $90^\circ$  Winkel zur Suture an (REGELSBERGER 2012).

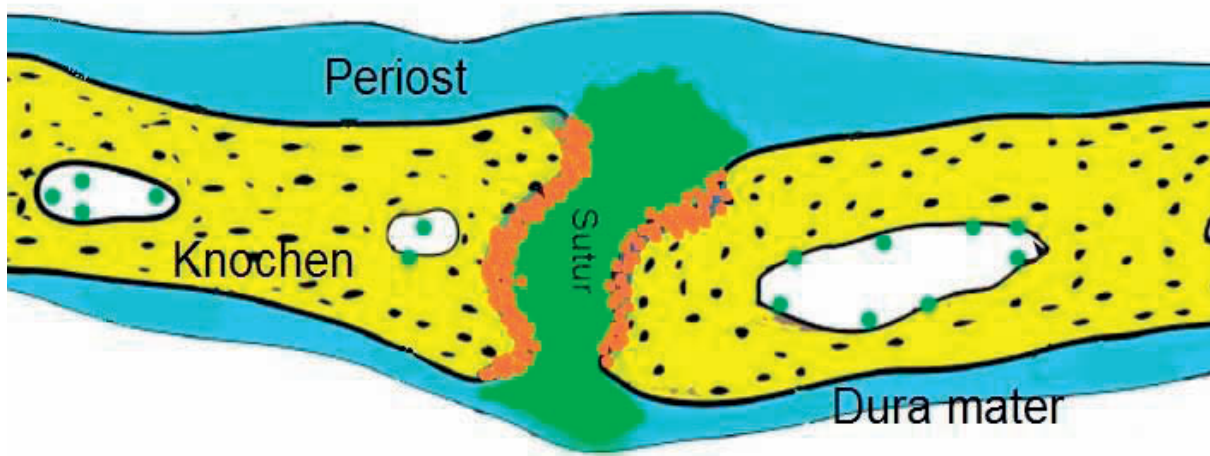
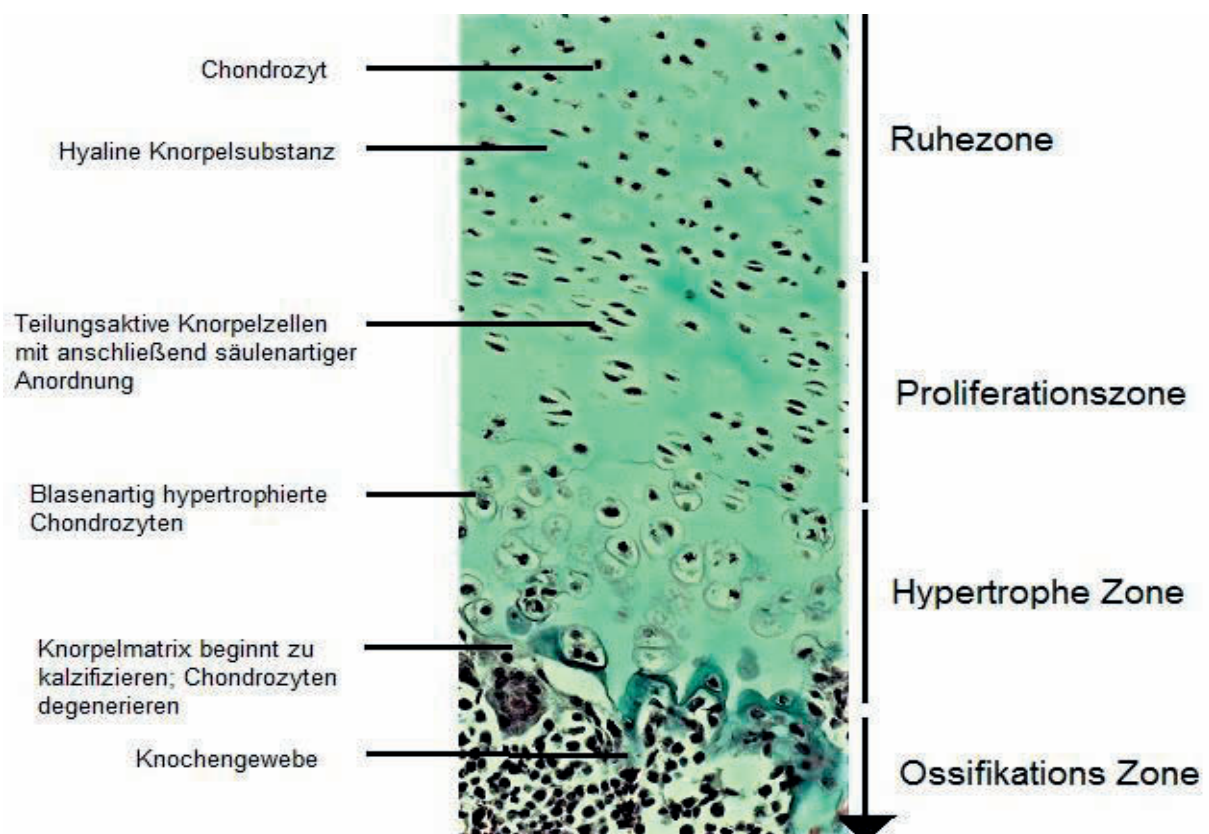


Abbildung 4.: Schematische Darstellung einer Suture (modifiziert nach ZHAO 2015). Grün dargestellt die Suture mit Kollagenfasern und Fibroblasten, orange dargestellt Osteoblasten randständig der Suture. Gelb sind die angrenzenden Schädelknochen und blau dorsal das Periost und ventral die Dura mater dargestellt.



### 2.2.2. Histologie der Synchronosen

In Synchronosen wird Knochengewebe über hyalinen Knorpel als Vorläufer gebildet, der sekundär verknöchert. Die Chondrozyten bilden neben neuen Knorpelzellen, die ein Längenwachstum der Synchronose ermöglicht, in hohem Maße extrazelluläre Matrix bestehend aus kollagenen Fasern, insbesondere Kollagen Typ II und Proteoglykane. Die Kollagenfasern strukturieren sich netzartig und binden Proteoglykane mit ein. Die Proteoglykane sind aus einem zentralen Hyaluronsäurestrang und daran anliegenden Glycosaminoglykanen aufgebaut, die über eine extrem hohe Wasserbindungsfähigkeit verfügen. Im hyalinen Knorpel finden sich an Glycosaminoglykanen zum einen das Chondroitin (4 und 6) und zum anderen das Keratinsulfat (MARTIN et al., 1998).

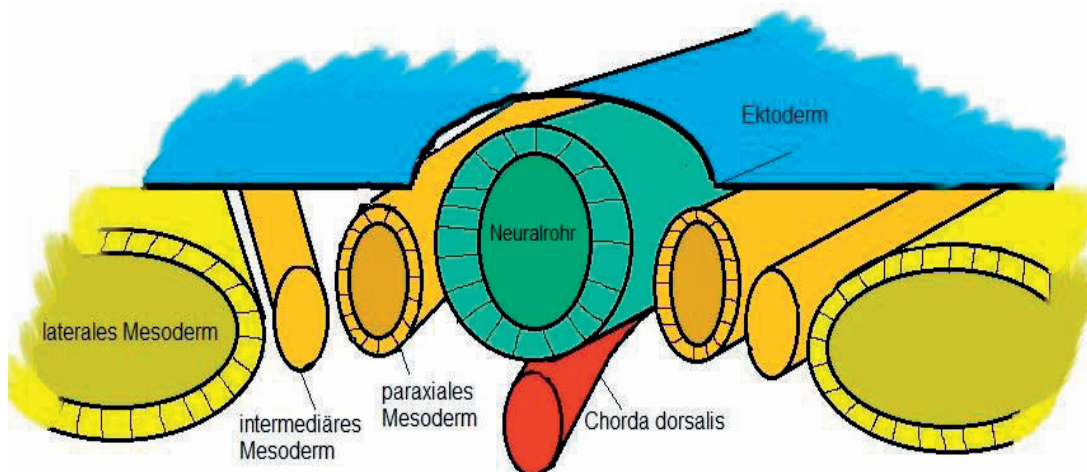


**Abbildung 5.:** Darstellung der Ossifikation innerhalb einer Synchronose. hypertrophe Zone mit Blasenknorpel, Proliferationszone mit säulenartiger Anordnung der Knorpelzellen, gemeinsame Ruhezone mit blasenförmigen Knorpelzellen.

Die Kollagenfaserstruktur innerhalb des hyalinen Knorpels ist durch die insgesamt strukturarme Knorpelmatrix unter dem Mikroskop nicht sichtbar und es entsteht ein glasiges Erscheinungsbild der Knorpelmatrix (Abbildung 5) (LIEBICH 2010). Die Zonierung der Synchronosen ist vergleichbar mit den Wachstumszonen der langen Röhrenknochen mit Ausnahme ihres bipolaren Charakters. Es zeigen sich von der Mitte bis zu den Knochenrändern der Synchronose folgende Strukturen: 1. Eine gemeinsame Ruhezone mit wenigen Chondrozyten, 2. Proliferationszonen, hier zeigt sich in Folge der Zellteilung eine säulenartige Anordnung der Chondrozyten, es kommt somit zur Längenzunahme der Synchronose in diesem Bereich. 3. Die hypertrophen Zonen am Übergang zum Schädelknochen. In diesem Bereich kommt es zur blasenartigen Volumenzunahme der Zellen. Im Anschluss zeigt sich in der Ossifikationszone ein Absterben der Chondrozyten und die kalzifizierung der hyalinen Grundsubstanz und somit die Bildung von Knochengewebe (Abbildung 5) (ABAD 2002).

### 2.3. Embryologische Entwicklung des Hundeschädels

Von den in der Embryologie vorkommenden drei Keimblättern (Mesoderm, Endoderm, Ektoderm) spielen bei der Ontogenese des Hundeschädels das äußere Keimblatt (Ektoderm) und das mittlere Keimblatt (Mesoderm) eine Rolle. Das Ektoderm differenziert sich im weiteren Verlauf zur Chorda dorsalis, dem Epidermisblatt und dem Neuralrohr, sowie zur Neuralleiste (Abbildung 6). Aus dem Neuralrohr entwickeln sich nach weiteren Umbauprozessen und Differenzierungen Gehirn und Rückenmark, aus der Neuralleiste entsteht das Mesektoderm des Kopfbereiches (SCHNORR 2006).



**Abbildung 6.: Schematische Darstellung der embryologischen Entwicklungen am Mesoderm (modifiziert nach SCHNORR 2006).**

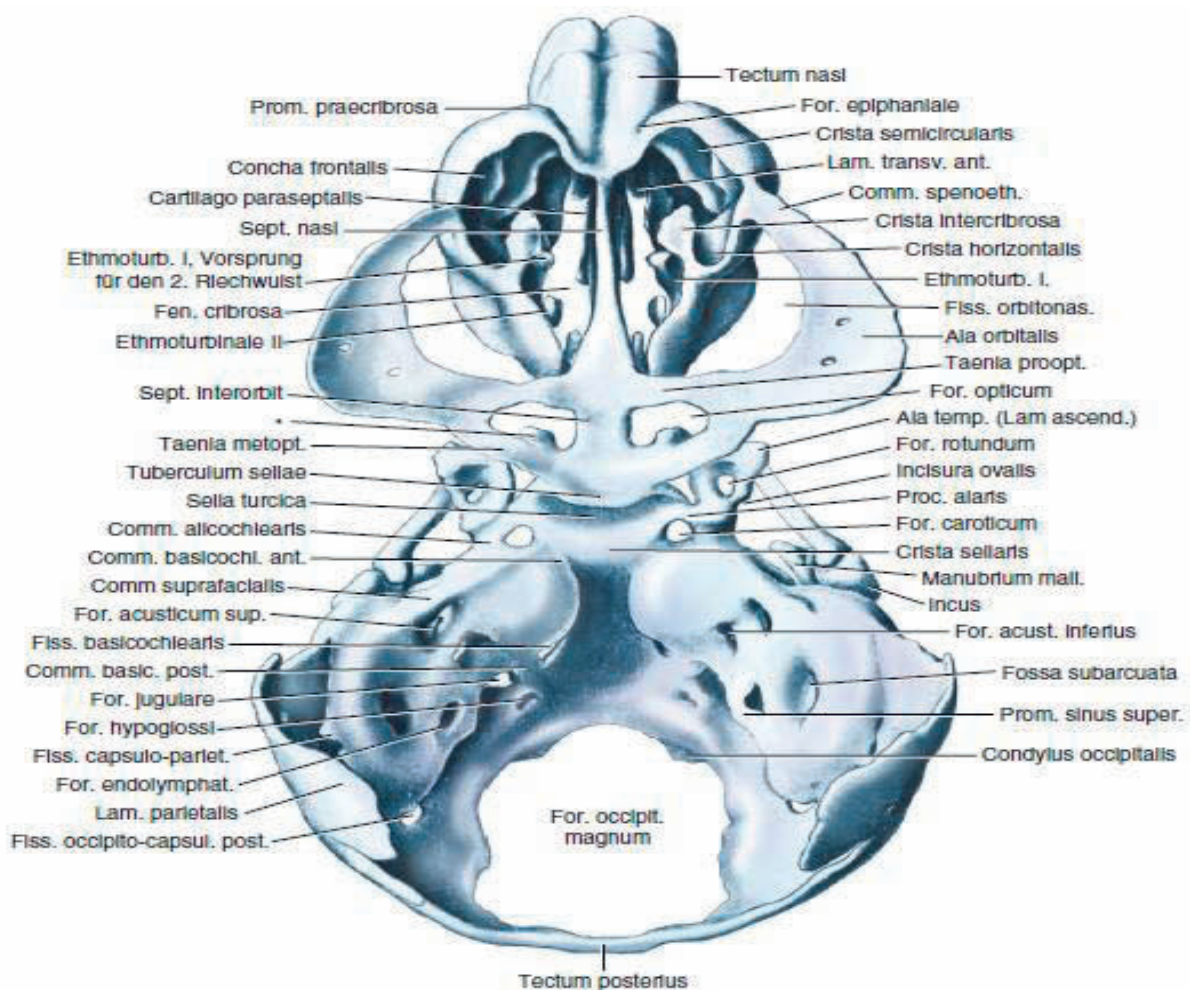
Das Mesoderm teilt sich zum paraxialen Mesoderm, dem lateralen Mesoderm und dem intermediären Mesoderm. Das paraxiale Mesoderm bildet im Anschluss an die Segmentierung die sogenannten Somiten (Urwirbel) und somit die Grundlage für das Rumpfskelett (Abbildung 6) (SCHNORR 2006). Die ersten fünf Somiten bilden die Grundlage für das Okziput, rostral davon bleibt das paraxiale Mesoderm unsegmentiert (RÜSSE und SINOWATZ, 1998). Basi- und Exoccipitale entstehen aus den ersten fünf Somiten, wohingegen das Supraoccipitale aus dem unsegmentierten Anteil des paraxialen Mesoderms entsteht. Das Os occipitale kann aufgrund dessen als Wirbel angesehen werden (COULY et al.). Orbitosphenoid und Basisphenoid haben ihren Ursprung ebenfalls im paraxialen Mesoderm.

Das Mesektoderm geht, wie bereits beschrieben, aus Anteilen der Neuralleiste hervor und bildet die Grundlage für die Entstehung des Os praesphenoidale. Die Grenze zwischen den Schädelanteilen, die dem paraxialen Mesoderm entstammen, und jenen Schädelanteilen, die der Neuralleiste entstammen, verläuft im Bereich des Dorsum sellae. Diese Knochenstruktur trennt auch die para- und prächordalen Anteile des Schädels. Ebenfalls mesektodermalen Ursprungs sind die Suturae der Calvarien (COULY et al., 1993).

### **2.3.1 Bildung von Neurocranium und Viscerocranium**

Im Rahmen der Keimblattbildung kommt es zu Zellwanderungen von lateral nach medial aus dem Ektoderm, wodurch die an der ovalen Keimscheibe der Primitivstreifen entsteht. Der Primitivstreifen bestimmt von nun an die Längsachse des Embryos. Am rostralen Anteil entsteht durch Verdickungen der Primitivknoten, kaudal die Kaudalwulst. Vom Primitivknoten ausgehend wächst der Kopffortsatz weiter nach vorne und vereinigt sich dort mit dem Entoderm. Vor der Vereinigungsstelle von Ektoderm und Entoderm befindet sich die Prächordalplatte, aus ihr geht der vordere Teil der Chorda dorsalis hervor. Der hintere Anteil der Chorda dorsalis geht aus dem

Kopffortsatz hervor (SCHNORR 2006). Die Chorda dorsalis, das primitive Stützskelett, endet im Bereich der Hypophysentasche (MÜLLER und O'RAHILLY, 1980). Das mesenchymale Gewebe der Chorda im Bereich der Hypophysentasche differenziert sich zu hyalinem Knorpel. Hieraus bildet sich während der Ontogenese ein aus Knorpel bestehendes Grundgerüst des Schädels, das Chondrocranium (Abbildung 7). Die erste Anlage des Chondrocraniums formiert sich ventral des Gehirns aus verschiedenen Anlagen. In der Medianen bildet sich eine Basalplatte. Diese besteht im rostralen Anteil aus den Cartilagine trabeculares, die die Grundlage für das Corpus ossis sphenoidalis und das Os ethmoidale bilden. Nach kaudal schließen sich die Cartilagine hypophyseales, die Cartilagine parachordales und der Cartilago occipitalis an. Lateral der Basalplatte entstehen weitere Knorpelkerne, aus denen im späteren Verlauf die Keilbeinflügel entstehen. Bei der Fusion dieser Kerne mit der Basalplatte bleiben Öffnungen bestehen, durch welche die späteren Gehirnnerven den Schädel verlassen. Das Chondrocranium umschließt das Gehirn basal und lateral ähnlich einer Schale und besteht somit vor allem im Bereich der späteren Schädelbasis (Abbildung 7) (RÜSSE und SINOWATZ, 1998).





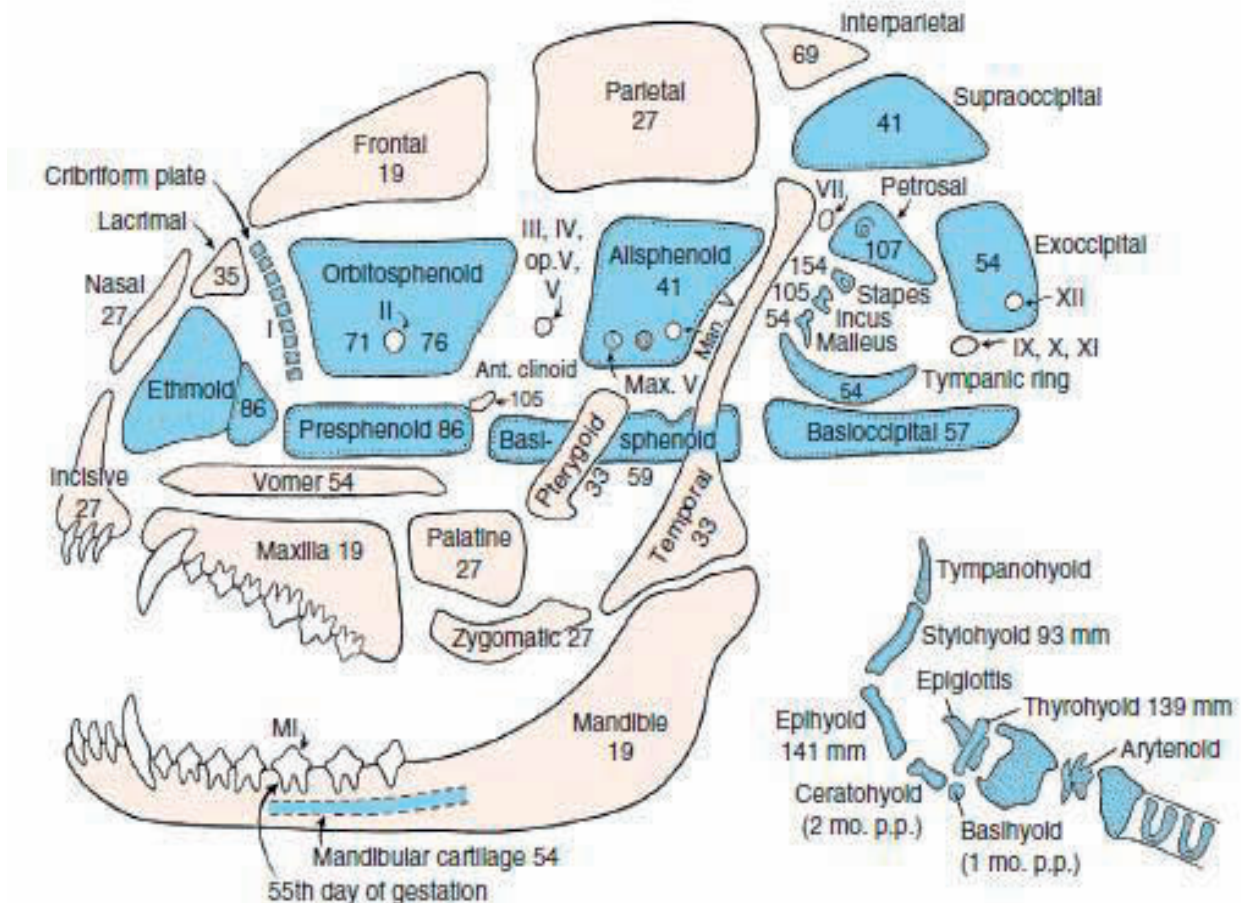
**Abbildung 7.: Darstellung des Chondrocraniums in dorsaler Ansicht (Evans: Millers Anatomy of the dog 4th ed., 1993).**

Die dorsalen und dorsolateralen Anteile des Schädels bestehen aus den Deckknochen des Desmocraniums. Diese gehen ohne ein hyalines Knorpelmodell direkt aus dem Mesenchym hervor. Damit lassen sich am Schädel zwei Ossifikationsformen unterscheiden, die enchondrale und die desmale Ossifikation. Die Calvarien, die dorsalen Seitenwände sowie die caudale Begrenzung des Neurocraniums und ein Großteil des Splanchnocraniums entstehen durch desmale Ossifikation (MORRISKAY und WILKIE, 2005).

### **2.3.2. Verknöcherung des Schädels**

Die Bildung des Knochens erfolgt während der Ontogenese nach zwei unterschiedlichen Prinzipien. Die desmale Ossifikation basiert auf der Verknöcherung von Bindegewebe. Es findet in umschriebenen Arealen, den primären Ossifikationszentren, eine Vermehrung von Mesenchymzellen statt. Mesenchymzellen differenzieren über Vorläuferzellen zu Osteoblasten und produzieren Osteoid und ein ungeordnetes Kollagenfasergeflecht. Auf diese Weise wird eine nicht verkalkte Knochenmatrix um die Osteoblasten herum produziert, wodurch die Distanz zwischen den Osteoblasten zunimmt. Ein Kontakt der Osteoblasten untereinander bleibt durch Zellfortsätze bestehen. Die Osteoblasten wandeln sich in Osteozyten um. In die umgebende Grundsubstanz werden anorganische Materialien eingelagert, was zur Mineralisierung führt und es entsteht Geflechtknochen (LIEBICH 2004). Als Besonderheit bildet sich bei den desmal ossifizierenden Schädelknochen zunächst ein Verband von Knochenbälkchen. Zwischen diesen Bälkchen sprießen Blutgefäße ein, welche undifferenzierte Mesenchymzellen transportieren. Diese dienen später als Vorläufer für Knochenmarkszellen. Zuletzt entstehen eine Lamina interna und eine Lamina externa. Zwischen diesen beiden Laminae bleibt die spongiöse Struktur der Knochenbälkchen bestehen, welche als Diploe bezeichnet wird. Zwischen den einzelnen Verknöcherungsinseln formieren sich bindegewebige Areale, die Fontanellen, die bei Säuglingen noch lange nach der Geburt bestehen bleiben, sich bei den Haustieren vor der Geburt verschmälern und als Schädelnähte bestehen

bleiben (Suturae) (RÜSSE und SINOWATZ, 1998). Die durch desmale Ossifikation entstehenden Knochen werden als Deckknochen bezeichnet. Am Schädel entstehen Os interparietale, -parietale, -frontale, -nasale, -lacrimale, -zygomaticum, Maxilla, Os incisivum, -palatinum, Vomer, Os pterygoideum und Mandibula durch desmale Ossifikation (Abbildung 8).



**Abbildung 8.: Darstellung der verschiedenen Ossifikationsformen am Hundeschädel (Evans: Millers Anatomy of the dog 4th ed). Laterale Ansicht des primordialen Hundeschädels, blau sind die Anteile des Chondrocraniums mit entsprechender enchondralen Ossifikation dargestellt, rosa sind die Knochen mit desmaler Ossifikation dargestellt.**

Die Ossifikation der Deckknochen beginnt vor der Verknöcherung des Chondrocraniums (Abbildung 8; Tabelle 1) (SCHNORR 2006). Bei der enchondralen Ossifikation wird im Laufe der Entwicklung das hyaline Knorpelgewebe schrittweise durch Knochen ersetzt. Diese Art der Verknöcherung findet sich vor allem an den langen Röhrenknochen und ist mit einem Längenwachstum verbunden. Man unterteilt im langen Röhrenknochen diese Art der Verknöcherung zudem in die peri- und die

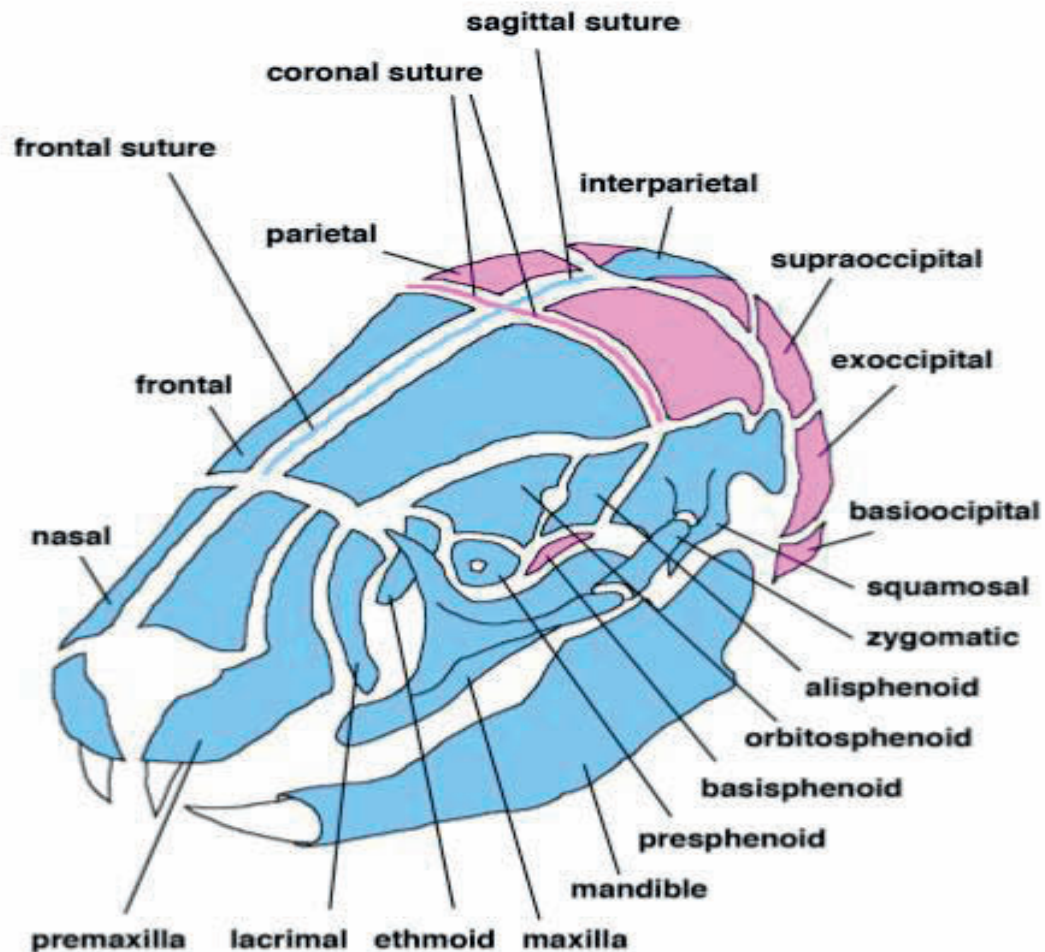
enchondrale Ossifikation. Die perichondrale Ossifikation beginnt mit der Umwandlung von Chondroblasten des Perichondriums zu Osteoblasten. Es bildet sich von der Diaphyse zur Epiphyse hinauf nach und nach eine sogenannte Knochenmanschette, welche im weiteren Verlauf das Periost bildet. Durch diese Verknöcherung des äußeren Knorpelrandes wird der Stoffwechsel der Knorpelzellen negativ beeinflusst und es kommt zur Hypertrophie und Degeneration der Chondrozyten und zur Verkalkung der Knorpelmatrix. Durch die Knochenmanschette wachsen zeitgleich Blutgefäße in den Knorpel ein und bringen so Chondroklasten in das verkalkte Gewebe. Die Chondroklasten sorgen für einen Abbau der verkalkten Knorpelsubstanz. In die so entstehenden Zwischenräume sprießen weitere Blutkapillaren und Bindegewebe ein. Im Zuge der enchondralen Ossifikation beginnt anschließend der stetige Auf- und Abbau von Knochengewebe durch Osteoblasten und Osteoklasten. Auf diese Weise entsteht die spätere Spongiosa. Darüberliegend findet sich die Zone des Blasenknorpels, gekennzeichnet durch die hypertrophierten, degenerierenden Chondrozyten. Durch die darüberliegende periphere Knochenmanschette und die damit verbundenen Änderungen im Knorpelstoffwechsel ordnen sich die Chondrozyten darunterliegend säulenartig an. Diese Zone des Säulenknorpels ist teilungsaktiv und verantwortlich für das Längenwachstum des Knochens, welches in der Metaphyse stattfindet. Oberhalb des Säulenknorpels liegen die Proliferations- und die Reservezone, in der die Chondrozyten in hyaliner Grundsubstanz eingebettet vorliegen (LIEBICH 2004). Die enchondrale Ossifikation findet auch an den Synchronrosen der Schädelbasis statt, hier zeigt sich im Unterschied zum langen Röhrenknochen jedoch ein diploider Aufbau mit gegenüberliegenden Wachstumszonen. Durch enchondrale Ossifikation entstehen im Bereich des Neurocraniums lediglich das Os sphenoidale und das Os ethmoidale der Schädelbasis. Am Splanchnocranium ossifizieren Os hyoideum, Amboß, Steigbügel und die Ossa conchae chondral. Diese Knochen werden als Ersatzknochen bezeichnet (Abbildung 8; Tabelle 1) (RÜSSE und SINOWATZ, 1998). Im Laufe der Ontogenese verbinden sich Knochen chondraler und desmaler Herkunft. Teilweise kommt es zur Verschmelzung, welche zur Bildung von Mischknochen führt. Mischknochen sind im Bereich des Neurocraniums das Os occipitale und das Os temporale, am Splanchnocranium ist dies der Malleus (Tabelle 1) (SCHNORR 2006).

**Tabelle 1.: Verknöcherungsform der einzelnen Knochen des Splanchocraniums und Chondrocraniums**

<b>Ersatzknochen (enchondrale Ossifikation)</b>	<b>Mischknochen (Verbindung aus desmal und enchondral ossifizierten Knochen)</b>	<b>Deckknochen (desmale Ossifikation)</b>
Os sphenoidale Os ethmoidale	Os temporale Os occipitale	Os interparietale Os parietale Os frontale
Os hyoideum Amboß Steigbügel Ossa conchae	Malleus	Os nasale Os lacrimale Os zygomaticum Os maxillare Os incisivum Os palatinum Os pterygoideum Os mandibulare Vomer

## 2.4. Embryonale Entwicklung der Suturen

Wie bereits erwähnt entstehen einige Knochen des Schädels aus den Zellen der Neuralleiste, andere aus dem paraxialen Mesoderm. Verschiedene Studien konnten zeigen, dass die Knochen des Gesichtsschädels, sowie das Os frontale, das Os interparietale und die Dura mater aus Zellen der Neuralleiste hervorgehen. Ursprung im paraxialen Mesoderm haben hiernach Os parietalis, - supraoccipitalis, -exoccipitalis, -basioccipitalis und -basisphenoidalis (Abbildung 9) (COULY et al. 1992, 1993, NODEN 2005, SENERATH-YAPA 2013).

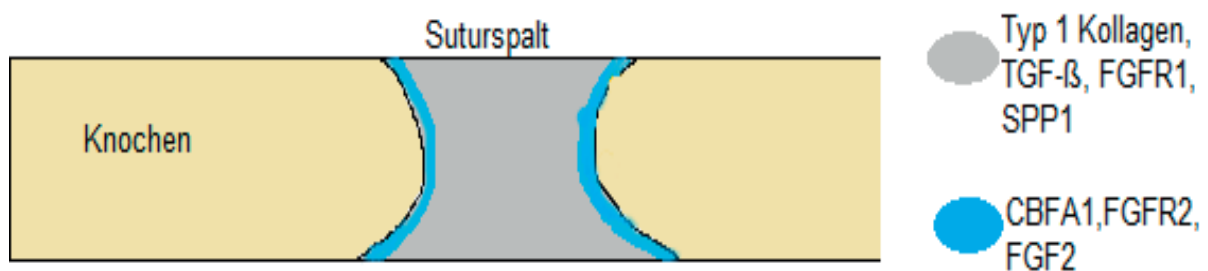


**Abbildung 9.: Embryonale Ursprungsgewebe der Schädelknochen und der Suturen (MISHINA und SNIDER 2014). Blau zeigt einen Ursprung aus der Neuralleiste, pink einen Ursprung aus dem paraxialen Mesoderm an.**

Suturen stellen die Verbindung der einzelnen Schädelplatten zueinander dar und enthalten mesenchymales Bindegewebe. Sie fungieren zum einen als Wachstumsfugen des Schädels, zum anderen ermöglichen sie bis zu einem gewissen Grad eine mechanische Bewegung / Ausdehnung der Schädelplatten zueinander (MISHINA und SNIDER 2014). Genetische Studien an Mäusen zeigten, dass die Sutura nasalis und -frontalis aus Zellen der Neuralleiste entstehen. Die Suturae coronales sind mesodermalen Ursprungs und liegen zwischen dem Os parietale mesodermalen Ursprungs und dem aus der Neuralleiste entstammenden Os frontale. Die Sutura sagittalis liegt zwischen den Ossa parietales, die mesodermalen Ursprungs sind, und entspringt selbst Zellen der Neuralleiste (Abbildung 9) (JIANG 2002).

### 2.4.1. Mechanismen des Fugenschlusses der Suturen

Die Suturen des Schädels fungieren als Wachstumszonen für die einzelnen Schädelknochen. Um selbst nicht zu ossifizieren, bedarf es innerhalb der Suture daher einer Balance zwischen der Proliferation und Differenzierung der beteiligten Zellen (OPPERMAN 2000). Verschiedene zu dieser Balance beitragende Signalwege wurden bereits identifiziert. Zu den Fibroblast growth factors (FGF) gehören verschiedene Signalproteine die in allen Geweben des Körpers vorkommen und an der Zelldifferenzierung und Proliferation in den einzelnen Geweben beteiligt sind. Hierzu binden sie an spezifische Rezeptoren der Zelloberfläche, den Fibroblast growth factor Rezeptoren (FGFR) (MÜLLER 1997, MORRIS-KAY 2005). Bei dem Transforming growth factor beta (TGF- $\beta$ ) handelt es sich um ein Zytokin welches im Rahmen der Embryogenese, aber auch im adulten Organismus verschiedene Zellfunktionen, wie z.B. Proliferation, Differenzierung, Apoptose, sowie die Adhäsion von Zellen reguliert (OPPERMAN 2000). Die Signal Peptid Peptidase (SPP 1) ist ein intramembranöses Enzym welches verschiedene Proteine, oder Signalpeptide innerhalb der Zellmembran spaltet und sowohl intra- als auch extrazellulär verschiedene z.T. aktive Spaltprodukte hinterlässt (VOSS 2013). Runt-related Transcription Factor 2 (CBFA1) gehört zu einer Familie von Transkriptionsfaktoren welche an der Regulation vieler von Osteoblasten exprimierten Genen beteiligt ist, somit ist CBFA1 ein Schlüsselfaktor für die Differenzierung für Osteoblasten (DUCY 2000).



**Abbildung 10.:** Schematische Darstellung der Verteilung von Substanzen im Suturspalt während des Fugenschlusses. Grau dargestellt wird in der Suturematrix Typ 1 Kollagen, TGF- $\beta$ , FGFR1 und SPP1. Blau am Rand der Suture wird CBFA1, FGFR2 und FGF 2 exprimiert.

Während des Fugenschlusses werden Typ 1 Kollagen, TGF- $\beta$ , FGFR und SPP-1 in der Matrix der Suture hochreguliert. CBFA-1 und FGF-2 werden an den jeweiligen Knochengrenzen vermehrt exprimiert (Abbildung 10) (HUENKO et al. 2001, MOONEY et al. 2007, COUSSENS et al. 2008, MOENNING et al. 2009, SHEN et al. 2009). Diese Prozesse unterliegen der Induktion durch externe Stimuli, wie z.B. dem expandierenden Gehirn (KOKICH 1986, DAVIS et al. 2009, OPPENHEIMER et al. 2009).

#### **2.4.1.1. Einfluss der Dura mater auf die Entwicklung der Suturen**

Die Dura mater entwickelt sich, wie bereits erwähnt, aus Zellen der Neuralleiste und beeinflusst sowohl die Entwicklung der Suturen, als auch die des Gehirns. Sie spielt eine wichtige Rolle bei der Wachstumsregulation, der Induktion von Signalkaskaden und der Balance von Differenzierung und Proliferation innerhalb der Suture (TYLER 1983, OPPERMANN 2005). Noch im ungeborenen Fetus interagiert die Dura mater chemotaktisch über die Sekretion von SDF-1 (stromal derived factor) mit den äußeren Zelllagen des Cerebrums und Cerebellums (REISS 2002, ZHU 2003). Direkt post natum erfolgt die Sekretion weiterer Faktoren, wie TGF- $\beta$  (tissue growth factor), FGF 1,2, und 4 (fibroblast growth factor), sowie BMP 4 (bone morphogenic protein), welche gewährleisten, dass die Suture sich nicht verschließt (OLGE 2004, GAGAN 2007). In der weiteren postnatalen Entwicklung zeigt sich eine Migration von Zellen der Dura mater in das Mesenchym der Sutura sagittalis und der Sutura interfrontalis. Diese führen zur Bildung von Fibroblasten, Chondrozyten und Osteoblasten im Bereich der sich entwickelnden Knochenränder (OLGE 2004). Die äußere Schicht der Dura mater verschwindet, und das Erscheinungsbild der Zellen verändert sich, sodass Hinweise auf einen Übergang von Epithel- zu Mesenchymzellen bestehen (EMT-Epithel to mesenchymal transition). EMT ist bekannt für die Wnt,  $\beta$ -catenin und TWIST Signalwege, auf die hier nicht näher eingegangen werden soll (YOSHIDA 2005). Um den 20.Tag post-natum zeigt sich eine Begrenzung der Zellen der Neuralleiste auf kleine Nester. Der Hauptanteil der zuvor aus Zellen der Neuralleiste entpringenden Gewebe besteht nun aus eingewanderten Zellen des paraxialen Mesoderms (GAGAN 2007). Die genaue Funktion dieser zurückbleibenden Zellen ist bislang noch ungeklärt. Zum einen wird eine Platzhalterfunktion innerhalb der Suture diskutiert (JIANG 2000,

GAGAN 2007). Zum anderen besteht die Möglichkeit, dass die verbleibenden Zellen der Neuralleiste zunächst weitere Zellen, oder parakrine signalinduzierende Substanzen zum Suturspalt beisteuern und im weiteren Verlauf als pluripotente Stammzellen erhalten bleiben (JIANG 2000, GAGAN 2007). In Transplantationsstudien mit Ratten wurde gezeigt, dass die Entfernung der fetalen Dura mater zu einer Verknöcherung der neu geformten Suturen im Bereich des Os parietalis führt (OPPERMAN 1993 und 1995). Heparin bindende Faktoren wurden ebenfalls als Sekret der Dura mater zum Erhalt des unverknöcherten Suturenstatus nachgewiesen (OPPERMANN 1996). Im Zuge dessen kommt es zur Differenzierung von Mesenchymzellen und zur Produktion extrazellulärer Matrix. Diese besteht insbesondere aus Kollagen Typ 1 und bone related proteins (BMP) und Proteoglycanen (VAN der REST 1991, COLE und HANLEY 1991, TRACY und MANN 1991). Die Dura mater hat somit initial einen Einfluss auf die Bildung und den Erhalt des unverknöcherten Status von Suturen, im weiteren Verlauf scheint die Beteiligung der Dura mater jedoch nicht mehr nötig um die Balance innerhalb der Suture aufrecht zu erhalten und ihre Funktion zu gewährleisten (OPPERMANN 1995, KIM et al. 1998). Dennoch zeigt sich durch die Aufhebung des Kontaktes zwischen der Dura mater und der Suture auch im weiteren Verlauf ein verzögerter Fugenschluss (ROTH et al. 1996). Somit sind die verschiedenen funktionellen Komponenten Schädelbasis, Calvarien und Gehirn, einschließlich der Meningen, nicht isoliert zu betrachten, sondern als funktionelle Einheit (MOSS und YOUNG, 1960; RICHTSMEIER et al., 2006). Sowohl die Suturen mit Ursprung aus der Neuralleiste, als auch die aus dem paraxialen Mesoderm unterliegen dem Prozess der desmalen Ossifikation. Dennoch zeigen sich Unterschiede im osteogenen Potential und der Regenerationsfähigkeit (SENERATH-YAPA 2013). Osteoblasten aus Zellen der Neuralleiste sprechen eher auf eine Signalinduktion über die Dura mater und FGF an als die des paraxialen Mesoderms (LI 2010, QUARTO 2010). Die Regenerationsfähigkeit im Bereich der Ossa frontales zeigt sich zudem höher als im Bereich der Ossa parietales (BEHR 2010). Insgesamt scheinen Knochen, die aus der Neuralleiste entstehen, mehr Proliferation zu zeigen und weniger auf apoptotische Signale wie TGF- $\beta$  anzusprechen als solche, die aus paraxialem Mesoderm entstammen (SENERATH-YAPA 2013).



### 2.4.1.2. Signalinduktion des Suturenschlusses

Verschiedene Signalwege zur Modulation der Suturen konnten bislang identifiziert werden. Darunter zählen der FGF, der BMP, die Wnt, und die Hedgehog Signalinduktion (MISHINA und SNIDER 2014). Im weiteren Verlauf soll nur auf einige Beispiele der Signalinduktion eingegangen werden.

Die FGF-Signalinduktion sorgt für die Stimulation der Zellproliferation. FGF Liganden, vor allem FGF-8, werden in aktiven craniofazialen Suturen exprimiert und haben Einfluss auf das weitere Fugenwachstum (CREUZET 2004, MACATEE 2003, SZABO-ROGERS 2008). Verschiedene Expressionsmechanismen der fibroblast growth factor Rezeptoren 1 und 2 (FGFR) beeinflussen den Status der Suturen. FGFR2 wird vor allem im Zentrum der Suture exprimiert und sorgt für Zellproliferation. FGFR1 wird in der Nähe der Knochenenden der Suture exprimiert und ist für eine vermehrte Mineralisation in diesem Bereich verantwortlich. Zusätzlich herrscht ein enges Zusammenspiel zwischen FGFR1 und CBFA-1, einem Protein, welches zur Differenzierung der Osteoblasten benötigt wird und seinerseits die Expression des FGFR1 reduziert (Abbildung 11). Bei einer Mutation des FGFR1 kommt es zu einer vermehrten Expression von CBFA1 (Abbildung 11) (MOSS 1960, SMITH 1978). Die Balance zwischen der Aktivierung von FGFR1 und FGFR2 ist entscheidend für den Erhalt oder die Fusion der Suture (SARKAR 2001).

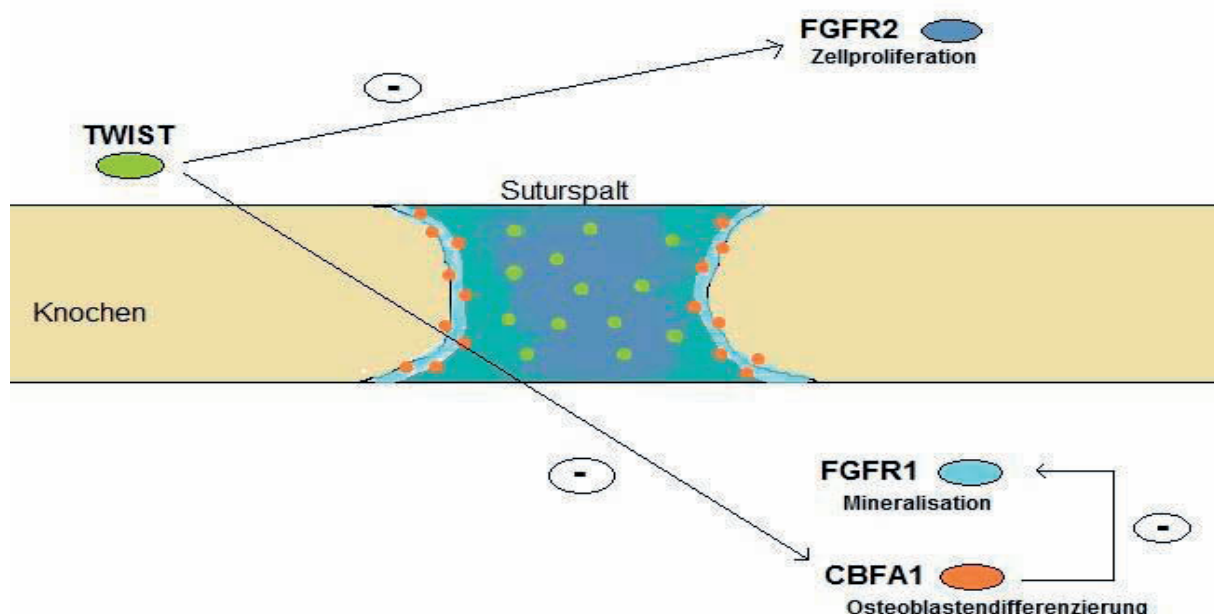
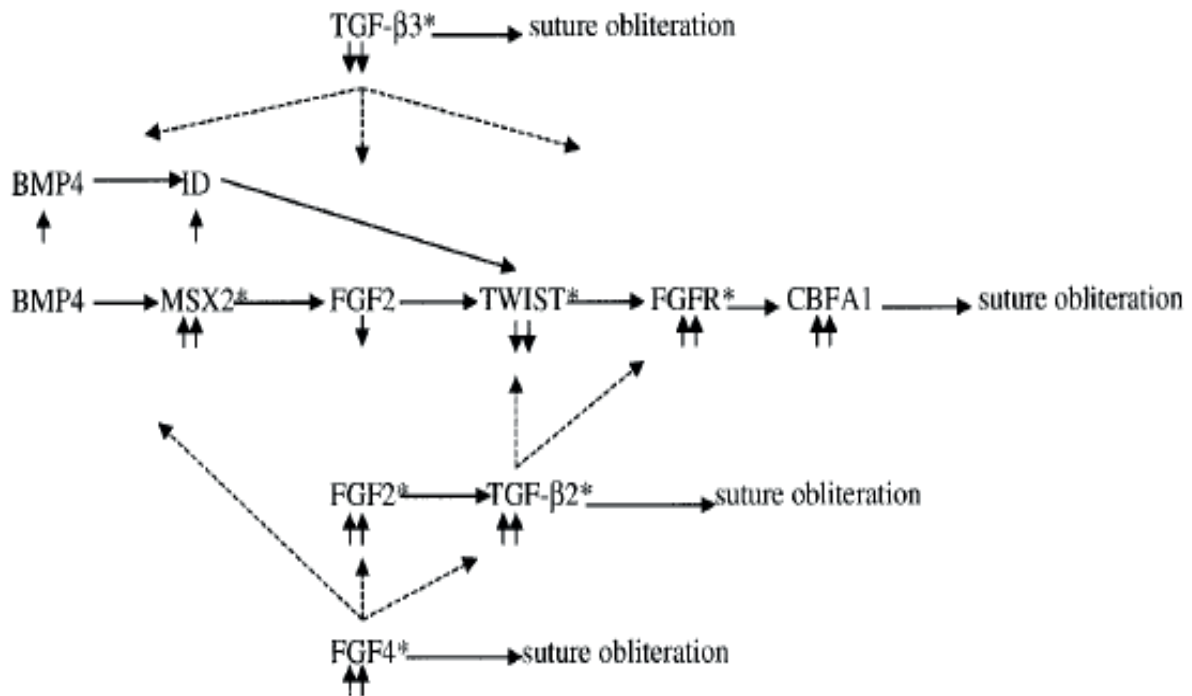


Abbildung 11.: Schematische Darstellung der Verteilung und Interaktion von FGFR1 und 2, CBFA1 und TWIST innerhalb des Suturspalt. Die Pfeile zeigen hemmende Einflüsse an.

Über die FGF-Signalinduktion wird auch der MAP-Kinase Signalweg (mitogen activated protein) induziert (TSANG 2004). Im Mesenchym der Suturen wird zudem auch TWIST exprimiert, ein Transskriptionsfaktor, welcher einen hemmenden Einfluss auf die Differenzierung von Osteoblasten und die Expressierung von FGFR2 innerhalb der Suture hat (Abbildung 11) (JOHNSON 2000, RICE 2000). Im Zusammenhang mit FGF2 zeigt sich eine Aufregulation von TWIST. Bei einer Mutation des TWIST kommt es zur Produktion funktionsloser Proteine und somit zur prämaternen Fusion von Suturen Saethre Chotzen Syndroms (TOWLER 1994, SAKOTAKA 2000, WILKIE 2000). Mutationen im Bereich der FGF-Signalinduktion führen zu verschiedenen Typen von Craniosynostosen in der Humanmedizin. Hier zu nennen sind z.B. zwei Missense -Mutationen (S252W und P253R) in der Region die das FGFR 2 codieren und mit dem Apert-Syndrom in Verbindung stehen (WILKIE 2001, MORRIS-KAY 2005). Auch im Crouzon-Syndrom wurden verschiedene Mutationen des FGFR2 festgestellt (GHOZZI 1999). TWIST ist ein entscheidender Faktor in der Pathogenese des Saethre Chotzen Syndroms (P263L und C342Y) (PASSOS-BUENO 2008, WILKIE 2001).

Bone morphogenic Proteins (BMP) spielen eine wichtige Rolle in der Regulation der Knochenbildung (BRANDYHOPADHYAY 2013). Durch die Bindung an Serin- und Threonin-Kinase Rezeptoren aktivieren sie weitere Signalkaskaden. Von besonderer Bedeutung ist hier der BMP-Smad regulierte Msx1 und Msx2 Transskriptionsfaktor, welcher einen hemmenden Einfluss auf die BMP-Signalkaskade selbst hat. Msx 1 und 2 haben einen erheblichen Einfluss auf die BMP-Signalkaskade und die Differenzierung und Proliferation von Osteoblasten innerhalb des Schädels (Abbildung 12). Mauslinien mit einer Mutation des Msx1 und Msx2 zeigen persistierende offene Fontanellen, ist die Mutation homozygot bleibt die Ausbildung des Os frontalis und parietalis aus (LIU 1999, SATOKATA 2000, ISHII 2003, WILKIE et al. 2000). Eine vermehrte Expression des Msx2 führt zu einer Fusion der Suturen (LIU et al. 1995,1999).



**Abbildung 12.: Schematische Darstellung der Signalinduktion (Opperman 2000).** Die bekannten (durchgezogene Pfeile) und potentiell relevanten (gepunktete Pfeile) Beziehungen der einzelnen mit Craniosynostosen in Verbindung stehenden Faktoren. Die Anzahl der Pfeile zeigt den Grad der Auf- oder Abregulation der einzelnen Faktoren im Zusammenhang mit der prämaternen Fusion von Suturen. Sternchen signalisieren Faktoren, welche bei Störungen unabhängig von Auf- oder Abregulation zur Ausbildung von Craniosynostosen führen.

Es besteht die Annahme, dass Msx2 und TGF  $\beta$  über die Regulation der Zellproliferation auch den Erhalt der Suture regulieren (LIU 1999). TGF- $\beta$ 2 sorgt in diesem Zusammenhang für eine vermehrte Zellproliferation innerhalb der Suture und letztlich zum Schluss der Suture. TGF-  $\beta$ 3 hingegen hemmt die Zellproliferation und die Fusion der Suture (Abbildung 13). Der Erhalt der sich bereits schließenden Sutura coronalis konnte experimentell durch die Zugabe von TGF  $\beta$ 3 in das Mesenchym der Suture erreicht werden. Umgekehrt zeigte sich eine Hemmung von TGF- $\beta$ 2 durch Zugabe neutralisierender Antikörper mit einem ebenfalls erhaltenden Einfluss auf die sich schließenden Suturen (Abbildung 12 und 13) (OPPERMAN 2000). Ein weiterer Faktor, der die BMP-Signalkaskade hemmend beeinflusst, ist das Noggin, ein extrazelluläres Protein, welches an BMP Liganden bindet, um eine Bindung an den Rezeptor zu verhindern. Noggin wird in offenen Suturen exprimiert und verhindert den Fugenschluss. Die Expression von Noggin wird durch die FGF-Signalkaskade gehemmt (WARREN 2003).

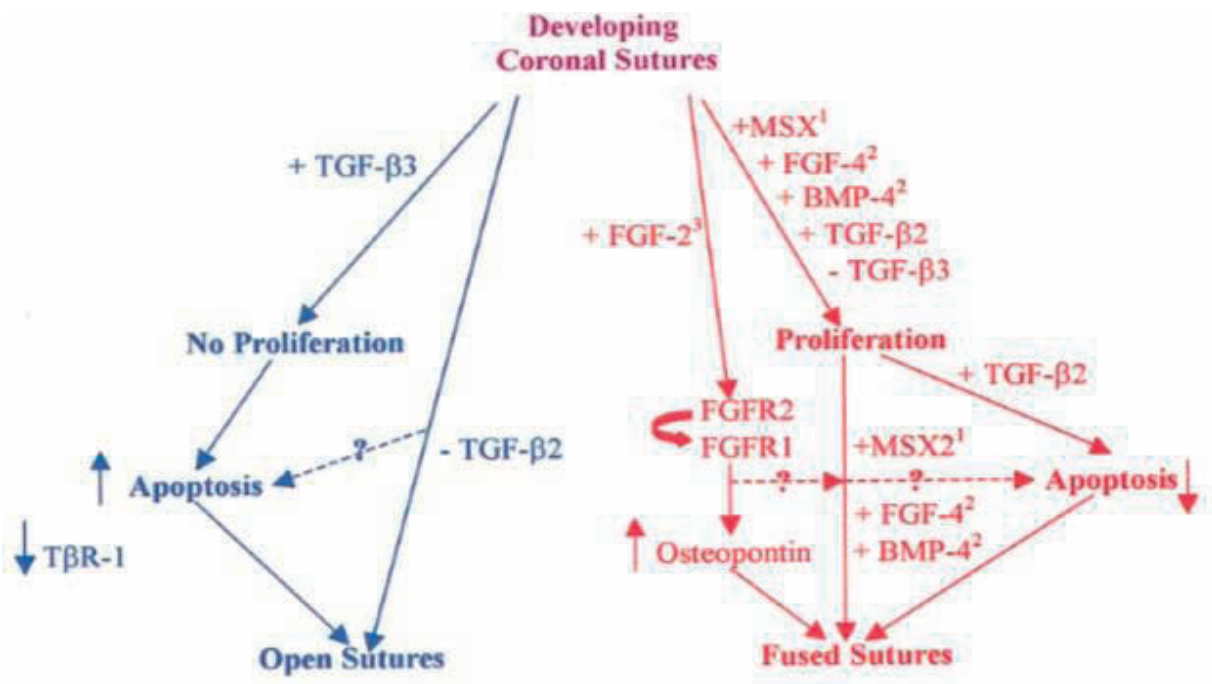


Abbildung 13.: Schematische Darstellung der Bedeutung von TGF- $\beta$ 1, 2 und 3, MSX1 und 2, BMP-4, FGF4 und FGFR1 und 2 für die Entwicklung der Sutura coronalis (Opperman 2000). Nach oben gerichtete Pfeile stellen vermehrtes Substrat / Aktivität, nach unten gerichtete Pfeile vermindertes Substrat/ Aktivität dar.

Experimentell konnte in Suturen mit FGFR2-Mutation, bekannt für die Ausbildung von Craniosynostosen, die Fusion der Sutur mit Noggin verhindert werden (Shen 2009). Eine direkte Verbindung der BMP-Signalkaskade und Craniosynostosen konnte ebenfalls gezeigt werden (KAMIYA 2008). Eine gehemmte BMP-Smad Signalkaskade im Bereich der Zellen der Neuralleiste resultiert in einer prämaturnen Fusion der Sutura frontalis. Des Weiteren zeigte eine geringe Erhöhung der BMPs (50%) eine Ausbildung von Craniosynostosen im Tiermodell (KOMATSU 2013). Beim Menschen zeigte sich eine Überexpression von Msx2, Ziel-Gen für die Herunterregulation des BMP Signalweges, als Ursache für die Boston Typ Craniosynostosen (JABS 1993). Eine Punktmutation des BMP3 Gens, welches die Ossifikation und Bildung von Synostosen begünstigt, konnte bei brachycephalen Hunden nachgewiesen werden (SCHOENEBECK 2012). Die vollständigen Mechanismen und Signalwege für den Schluss der Wachstumsfugen im Bereich des Schädels bleiben bislang jedoch noch ungeklärt (MOONEY 2001, SLATER 2009).

## **2.5. Embronale Entwicklung der Synchronosen**

Die Schädelbasis oder auch Basicranium ist der ventrale Anteil des Neurocraniums. Die rostralen Anteile der Schädelbasis entspringen Zellen der Neuralleiste, die caudalen Anteile entstehen aus dem paraxialen Mesoderm (COULY 1993, LE DOUARIN 1993). Die Mitte des Os basisphenoidale markiert die Grenze zwischen den Anteilen aus Zellen der Neuralleiste und denen aus paraxialem Mesoderm (COULY 1993). Wie bereits erwähnt geht die Verknöcherung des angelegten Chondrocraniums enchondral vonstatten und verläuft von caudal nach rostral. Die bestehenbleibenden Verbindungen zwischen den Knochen der Schädelbasis sind die knorpeligen Synchronosen, die als Wachstumszonen der Schädelbasis fungieren (NEMZEK 2000, JEFFREY 2002).

### **2.5.1. Mechanismen des Verschlusses der Synchronosen**

Verschiedene Mechanismen beeinflussen den Schluss der Synchronosen. Zum einen geht ein hormoneller Einfluss aus humanmedizinischen Studien hervor. Es zeigt sich unter dem Einfluss von Wachstumshormon (growth hormon-GH), welches in der Pubertät vermehrt ausgeschüttet wird, eine Begünstigung der Fusion der Synchronosen (LEWIS 1985, PIRINEN 1994). Parathyroid hormone related Peptide (PTHrP) hemmt die Chondrozytendifferenzierung und beschränkt somit das Längenwachstum innerhalb der langen Röhrenknochen. Ein Einfluss des PTHrP auf die Synchronosen der Schädelbasis wird ebenfalls diskutiert (ISHII-SUZUKI 1999). Auch Testosteron zeigt eine regulierende Wirkung im Bereich der Schädelbasis (VERDONCK 1999). Studien am Kaninchen zeigten zudem auch einen positiven Einfluss mechanischer Stimuli auf die Proliferation der Zellen innerhalb der Synchronosen (WANG 2002). Studien an genetisch veränderten Mäusen stellten des Weiteren auch Signalinduktionswege wie zum Beispiel der FGF-, BMP-, Shh- und Sox9 Familien als essenziell heraus (DUDLEY 1995, LUO 1995, ESWARAKUMAR 2002,2004).

Der Effekt des BMP Signalweges wurde anhand von Organkulturen näher untersucht. Synchrondrosen wurden in Anwesenheit von BMP4 kultiviert und zeigten vermehrtes Knorpelwachstum und Produktion extrazellulärer Matrix (SHUM 2003). Die FGF Signalinduktion verläuft über die Fibroblast growth factor Rezeptoren 1 und 2 (FGFR), welche sowohl im perichondrium der Synchrondrose als auch im Periost exprimiert werden (RICE 2003). Für die Expansion innerhalb der hypertrophen Zone ist Hyaluron ein bedeutender Faktor. Somit spielt Hyaluron auch in der Ausdehnung der gesamten Schädelbasis eine wichtige Rolle (GAKUNGA 2000).

Abnormalitäten im Wachstum der Schädelbasis treten in der Humanmedizin im Rahmen von Down-Syndrom, Turner Syndrom, sowie syndromalen Craniosynostosen und vielen weiteren auf (CAPTIER 2003, KREIBORG 1981, 1993, 1999, MOLSTED 1993, JENSEN 1993, 1994, TOKUMARU 1996).

## **2.6. Verschluss der Suturen und Synchrondrosen und Beendigung des Schädelwachstums**

### **2.6.1. Zeitpunkt des Schlusses der Suturen/ Synchrondrosen beim Menschen**

Sowohl die Synchrondrosen, als auch die Suturen des Schädels unterliegen, wie bereits beschrieben, strenger Regulationsmechanismen in Bezug auf Proliferation und Fugenschluss. In der Humanmedizin ist beschrieben, dass die Ossifikation der Suturen mit dem Ende des 30. Lebensjahres beginnt und zwischen dem 30. und 40. Lebensjahr abgeschlossen ist. Im Falle der fazialen Strukturen beläuft sich der Zeitraum auf das 70. bis 80. Lebensjahr (STANLY 1982, OPPERMAN 2000, WARWICK und WILLIAMS 1973). Bei näheren Untersuchungen der Sutura sagittalis konnten keine geschlechtsspezifischen Unterschiede in der Fusion der Suturen festgestellt werden (ALVES 2009). Studien mit Ratten werden zur näheren Untersuchung des physiologischen Fugenschlusses herangezogen. Hier schließt die Sutura interfrontalis am 21. Tag post-natum, die Sutura sagittalis hingegen bleibt lebenslang als offen erhalten (BRADLEY 1997, GREENWALD 2000).

Innerhalb der Synchrondrosen der Schädelbasis steht vor allem die Synchrondrosis sphenoccipitalis im Mittelpunkt des Forschungsinteresses, da diese zu einem

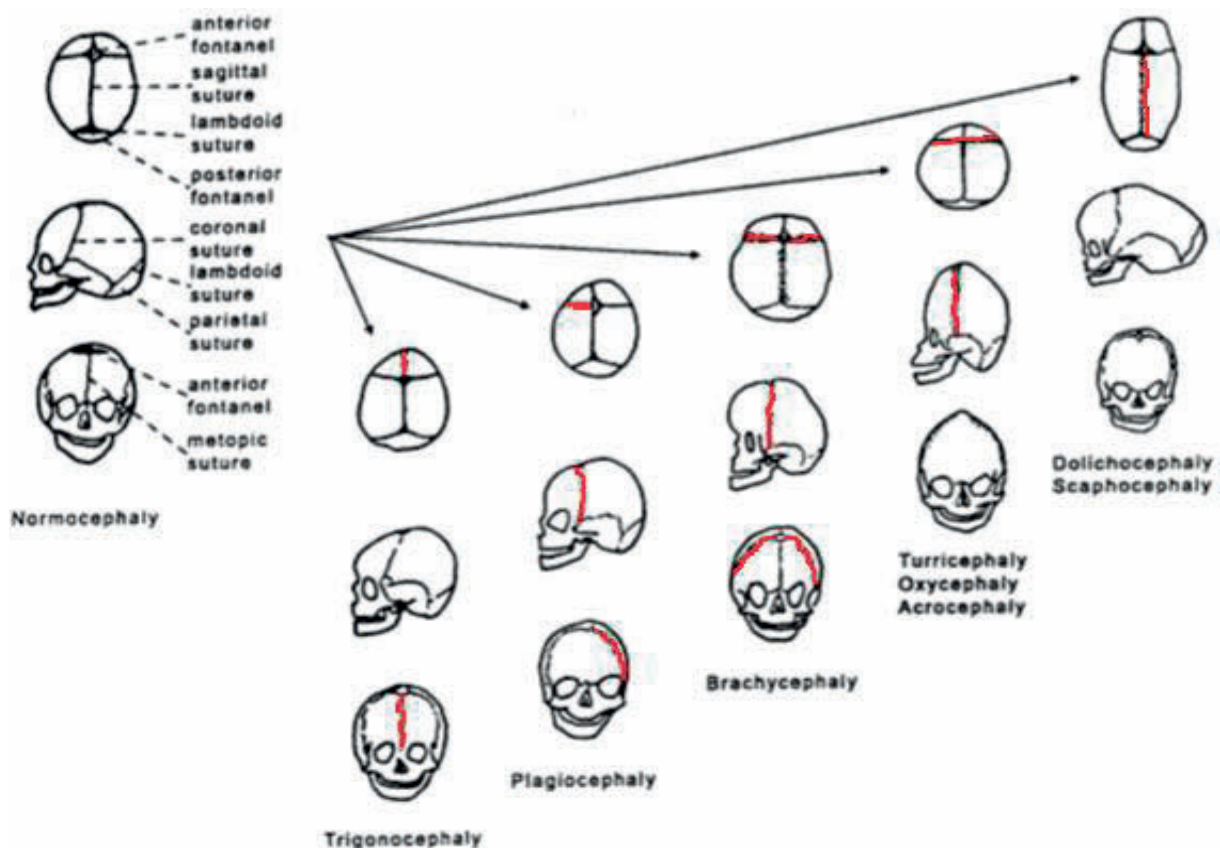
Großteil für das Längenwachstum der Schädelbasis verantwortlich ist (MAO und NAH, 2004). Ein geschlechtsspezifischer Unterschied konnte in Bezug auf den Fugenschluss festgestellt werden: bei der Frau tritt dieser zwischen dem 11. und 14. Lebensjahr ein und beim Mann zwischen dem 13. und 16. Lebensjahr (POWELL und BRODIE, 1963; SHIRLEY und JANTZ, 2011).

Die Verknöcherung des Gliedmaßenskelettes beim Hund erfolgt, je nach Knochen, innerhalb der ersten Lebenswochen und dem ersten Lebensjahr. Die Angaben über den Zeitpunkt der Ossifikation an der Synchondrosen der Schädelbasis beim Hund sind ungenau, sie soll ebenfalls im ersten Lebensjahr stattfinden. Zudem wird nicht weiter auf mögliche Unterschiede zwischen den verschiedenen Rassen eingegangen. (USSOW, 1901; STOCKARD, 1941). Eine Studie RAGER et al 2014 stellt einen anatomischen Vergleich des Fugenschlusses von Synchondrosen und Suturen bei 1162 Tierschädeln verschiedener Säugetierspezies an. Ein Suturenschluss Level, bei dem prozentual der Anteil geschlossener Wachstumsfugen am Schädel erfasst wird, wurde ermittelt. Es zeigt sich das plazentale Säugetiere vergleichsweise mehr geschlossene Suturen aufweisen (20,6%) als Beuteltiere (11,97%). Die Synchondrosis basioccipitalis und intersphenoidalis sind die einzigen Synchondrosen die bei allen Spezies schließen, die Sutura interparietalis und die Sutura supraoccipito-exoccipitalis schließen in den meisten Spezies. Bestimmte Suturen schließen in allen untersuchten Spezies als erstes (Sutura interoccipitalis, occipitosphenoidalis, parietooccipitalis (coronalis) und interparietalis) (RAGER et al 2014). In dieser Studie machen die Autoren jedoch weder Angaben zum Alter der untersuchten Tiere, noch zum Zeitpunkt des Fugenschlusses.

Beim Rind wurde eine Studie zum Ossifikationszeitpunkt der Synchondrosis spenooccipitalis durchgeführt. Hierbei wurden Rinder der Rasse Hereford mit und ohne Dwarfismus verglichen. Bei den vom Minderwuchs betroffenen Tieren tritt eine frühere Verknöcherung der besagten Synchondrose (5. Lebensmonat) ein. Bei der phänotypisch unauffälligen Kontrollgruppe hingegen schließt die Wachstumsfuge 24 bis 36 Monate nach der Geburt (JULIEN et al. 1957).

### 2.6.3. Probleme und Störungen des Fugenschlusses beim Menschen

Da die Suturen maßgeblich für das Schädelwachstum verantwortlich sind resultiert die Fusion einzelner Fugen in einem Wachstumsstopp an der betreffenden Stelle. Diese prämatüre Fusion führt zu einem Anstieg des intracraniellen Drucks, sowie zur Deformation des Schädels (RICE 2003, MORRIS-KAY 2005). In der Humanmedizin sind verschiedene Schädeldeformationen in Abhängigkeit der jeweils prämatür verknöcherten Suture beschrieben. Die vorzeitige Fusion der Sutura interfrontalis resultiert in einem sogenannten Keilschädel, auch Trigonozephalus. Die vorzeitige Fusion beider Suturae coronales resultiert in einem Turri (Turm-), oder Brachycephalus (Kurzschädel). Verknöchert nur eine coronale Suture zu früh kommt es zur Ausbildung eines Plagiocephalus, bei dem eine Schädelseite abgeflacht ist. Bei einem vorzeitigen Schluss der Sutura sagittalis kommt es zur Ausbildung eines Dolichocephalus mit ausgeprägtem Längenwachstum. Die vorzeitige beidseitige Verknöcherung der Sutura lamboidea ist selten, sie resultiert in einem abgeflachten Hinterkopf und ist insbesondere mit Anomalien im Bereich des Gehirns assoziiert. Ein Mikrocephalus entsteht bei einer sogenannten Pansynostosis, der Verknöcherung aller Suturen des Calvariums (Abbildung 14) (MÜLLER 1997).





**Abbildung 14.: Darstellung der verschiedenen Schädeldeformationen in Abhängigkeit der jeweils prämaturn fusionierten Suturen. Müller 1997.**

Mentale Behinderungen, Lernschwächen und Verhaltensanomalien sind beim Menschen im Zusammenhang mit Craniosynostosen beschrieben (DA COSTA 2006). Erkrankungen wie die Chiari Malformation Typ 1, Ventrikulomegalie und Hydrozephalus, sowie ophthalmologische Erkrankungen treten im Zusammenhang mit dem prämaturnen Schluss von Suturen auf (STRAHLE 2011, COLLMANN 1988, GUPTA et al. 2003). Unter dem Begriff Craniosynostose versteht man die vorzeitige Verknöcherung einer oder mehrerer Suturen, die in der Humanmedizin zum Teil schon pränatal beginnt. Craniosynostosen können im Zusammenhang mit weiteren Missbildungen auch im Rahmen verschiedener Syndrome, als sogenannte syndromale Synostosen auftreten. Dem gegenüber stehen die nicht syndromalen Craniosynostosen, bei der keine weiteren Missbildungen auftreten (COHEN 2000).

Zu den syndromalen Craniosynostosen gehören vor allem das Saethre-Chotzen-, Pfeiffer-, Apert- und das Crouzon-, sowie weitere hier nicht genannte Syndrome. Sie alle entstehen durch einen autosomal dominant vererbten Gendefekt, welcher die verschiedenen charakteristischen, klinischen Phänotypen dieser Syndrome hervorruft (ten DONKELAAR 2006, JONES 2006, OMIM 2007). In jedem dieser Syndrome finden sich zudem Veränderungen im Bereich des Gehirns. Ob diese Veränderungen sekundär oder primär zu den Veränderungen der Schädeldecke stehen ist bislang ungeklärt. Die Veränderungen des Gehirns sind: 1. Deformationen des Gehirns, welche wahrscheinlich mit der Deformation der Schädeldecke in Zusammenhang stehen. 2. Die Herniation des Kleinhirns im Sinne einer Chiari Malformation Typ 1, welche sowohl bei syndromalen als auch bei multiplen nicht syndromalen Craniosynostosen beobachtet werden kann (CINALLI 2005, FEARON 2009, LEIKOLA 2010). 100% der Patienten mit einer Kleeblattdeformation des Schädels, 70% der Patienten mit Crouzon- Syndrom, und 50% derer mit Pfeiffer-Syndrom weisen eine Chiari Malformation Typ 1 auf (CINALLI 1995,1998). Es besteht die Annahme, dass die Chiari Malformation postnatal als Folge der abnormalen Schädelentwicklung erworben wird (RAYBAUD 2007). Ursache ist wahrscheinlich das verminderte Wachstum des Os occipitale und eine somit verminderte Größe der caudalen Fossa (CINALLI 2005, NISHIKAWA 1997, NOUDEL 2009). Eine prämaturne Fusion der Sutura lambdoidea steht in engem Zusammenhang mit dieser Malformation und wird als

prädisponierender Faktor beschrieben (CINALLI 1995, VENES 1988). Zudem ist eine venöse Hypertension in Kombination mit einem erhöhten intracraniellen Druck innerhalb der Schädelkalotte als Folge der craniofazialen Anomalien und als mögliche Ursache der Chiari Malformation in der Literatur diskutiert (AL-OTIBI 2007, HAYWARD 2005, RICH 2003, ROBSON 2000, TAYLOR 2001, THOMPSON 1997). Als 3. sind die weiße Substanz betreffende Veränderungen zu nennen: Ventriculomegalie, Hydrocephalus, Agenesie/ Ausdünnung des Corpus callosum und pyramidale Hypoplasie (JONES 2006, OMIM 2007). Sowohl die Ventriculomegalie, als auch der Hydrocephalus sind häufig assoziiert mit Craniosynostosen. Es bestehen Hinweise, dass diese auch in der Pathophysiologie der Chiari Malformation eine Rolle spielen (VENES 1988, FRANCIS 1992, CINALLI 1995).

Auf die häufigsten, hier bereits genannten, syndromalen Craniosynostosen der Humanmedizin soll im weiteren Verlauf genauer eingegangen werden.

### **2.6.3.1. Apert-Syndrom**

Die häufigste Form der syndromalen Craniosynostosen ist die Acrocephalosyndactylie Typ 1, das sogenannte Apert-Syndrom. Es tritt mit einer Prävalenz von 1 in 55.000 Geburten auf (COHEN 1992). Ursächlich ist eine autosomal dominant vererbte, oder sporadisch auftretende Mutation des FGFR 2 Gens (JONES 2006, OMIM 2007). Eine Studie konnte zeigen, dass Kinder älterer Paare häufiger betroffen sind, insbesondere betrifft dies ältere Väter, hierbei ist das klinische Bild des Apert- Syndroms variabel (LAJEUNIE 1999). Charakteristisch sind jedoch irreguläre Craniosynostosen aller Suturen, eine Hypoplasie des Mittelgesichts, sowie knöcherne und kutane Syndactylien aller vier Extremitäten. Ca. 50% der Patienten zeigen mentale Beeinträchtigungen mit einem verminderten Intelligenzquotienten (PATTON 1988). Dies steht vermutlich im Zusammenhang mit einer Unterentwicklung des limbischen Systems in betroffenen Patienten (TOKUMARU 1996, YACUBIAN-FERNANDES 2005). Der Bulbus olfactorius kann eine Fusion der Mittellinie oder eine Unterentwicklung bis hin zur Arhinencephalie aufweisen. Die Strukturen des Hippocampus und des pyramidalen Systems sind ebenfalls nicht vollständig entwickelt und das Corpus callosum kann eine partielle oder vollständige Agenesie aufweisen

(TEN DONKELAAR 2006, DE LEON 1987, COHEN und KREIBORG 1990, 1993). Des Weiteren sind vereinzelt Abnormalitäten im Bereich der Gyri und Sulci des Großhirns, sowie Ventriculomegalie und Hydrocephalus beschrieben (TOKUMARU 1996). Hinsichtlich der Ventriculomegalie wird angenommen, dass diese sekundär zur Deformation des Schädels entsteht. Die Chiari Malformation tritt im Zusammenhang mit dem Apert-Syndrom nur selten auf. Eine Erklärung hierfür ist, dass diese mit einer prämaternen Fusion der Lambdasutur assoziiert ist, welche beim Apert-Syndrom ebenfalls weniger häufig beschrieben ist (CINALLI 1995).

#### **2.6.3.2. Crouzons- Syndrom**

Beim Crouzon-Syndrom, der craniofazialen Dysostose, ossifiziert zunächst die Sutura coronalis beidseits was zu einer markanten brachycephalen Kopfform führt. Im weiteren Verlauf fusionieren auch die anderen Suturen der Schädelkalotte. Das Mittelgesicht inklusive der Maxilla ist bei den Patienten unterentwickelt (FJORTOFT 2007). Klinisch zeigen betroffene Kinder mentale Behinderungen und auch epileptiforme Anfälle können auftreten. Nähere Untersuchungen des Gehirns betroffener Patienten ergaben eine Hypoplasie oder Agenesie des Corpus callosum, sowie eine nicht progressive Ventriculomegalie (PROUDMAN 1995). Die Chiari Malformation Typ 1 besteht, wie bereits erwähnt, bei ca. 70% der Patienten und ist somit die häufigste Anomalie beim Crouzons-Syndrom. Beim Vorliegen eines Hydrocephalus besteht immer auch eine Chiari Malformation Typ 1, jedoch zeigen nur 50% der Patienten mit Crouzons-Syndrom und Chiari Malformation auch einen Hydrocephalus. Die Chiari Malformation ist begründet in einer kleinen caudalen Fossa und assoziiert mit einer prämaternen Fusion der Sutura lamboidea innerhalb der ersten 24 Lebensmonate (CINALLI 1995). Im Falle des Crouzon-Syndroms besteht ein autosomal dominanter Erbgang mit Mutationen des FGFR 2 und FGFR 3 Gens (JONES 2006, OMIM 2007).

### **2.6.3.3. Pfeiffer- Syndrom**

Das Pfeiffersyndrom, auch bekannt als Acrocephalosyndactylie Typ V wird in drei Subtypen unterteilt. Bei dem ersten Subtyp handelt es sich um eine milde Form der bilateralen coronalen Synostose. Patienten zeigen eine brachycephale Kopfform, ein flaches Gesicht, Hypertelorismus und eine geringgradige Syndactylie mit großen Daumen und Zehen. Diese Form ist gelegentlich mit mentalen Defiziten vergesellschaftet (JONES 2006). Subtyp zwei und drei treten sporadisch auf und sind schwerwiegender in ihrer klinischen Ausprägung. Zudem haben sie eine geringere Überlebensrate (ROBIN 1998). Bei diesen Subtypen bestehen markante hervortretende Augen, Ankylosierungen der Ellbogen und angeborene Herzfehler (JONES 2006). Subtyp zwei wird durch einen kleeblattförmigen Schädel (cloverleaf skull) gekennzeichnet. Hydrocephalus und Chiari Malformationen Typ 1 sind in Zusammenhang mit dem zweiten Subtyp ebenfalls beschrieben (PLOMP 1998, BARKOVICH 2005, COLOSIMO 2005). Eine sekundär zur Schädelform auftretende venöse Abflussstörung mit einer assoziierten, verminderten Resorption des Liquor cerebrospinalis wird als Ursache für diese Veränderungen angenommen (FRANCIS 1992, TOKUMARU 1996). Dem Pfeiffer- Syndrom liegt eine autosomal dominante Mutation des FGFR 1 und FGFR 2 Gens zugrunde (JONES 2006, OMIM 2007).

### **2.6.3.4. Saethre-Chotzen-Syndrom**

Das Saethre-Chotzen-Syndrom wird hervorgerufen durch eine Mutationen im TWIST1-Gen. Dieses Gen kodiert einen Transkriptionsfaktor, welcher vor allem in Mesoderm entspringenden Geweben exprimiert wird und der die Differenzierung und Determinierung osteogener Zelllinien reguliert (LEE 1999). Zusätzlich bestehen bei einigen Patienten Mutationen im FGFR2-Gen (OMIM 2007). Betroffene Patienten zeigen ein brachycephales Erscheinungsbild mit einer hypoplastischen Maxilla, prominenten Ohren, flachen Orbitae mit Ptosis des Augenlids, sowie einer fazialen Asymmetrie. Zusätzlich besteht eine Syndactylie des zweiten und dritten Fingers, sowie der dritten und vierten Zehe mit einer Verkürzung der distalen Phalangen. Die Craniosynostosen betreffen die Sutura coronalis, lambdoidea oder interfrontalis (metopische Suture) mit zeitgleich spät schließenden Fontanellen und parietalen

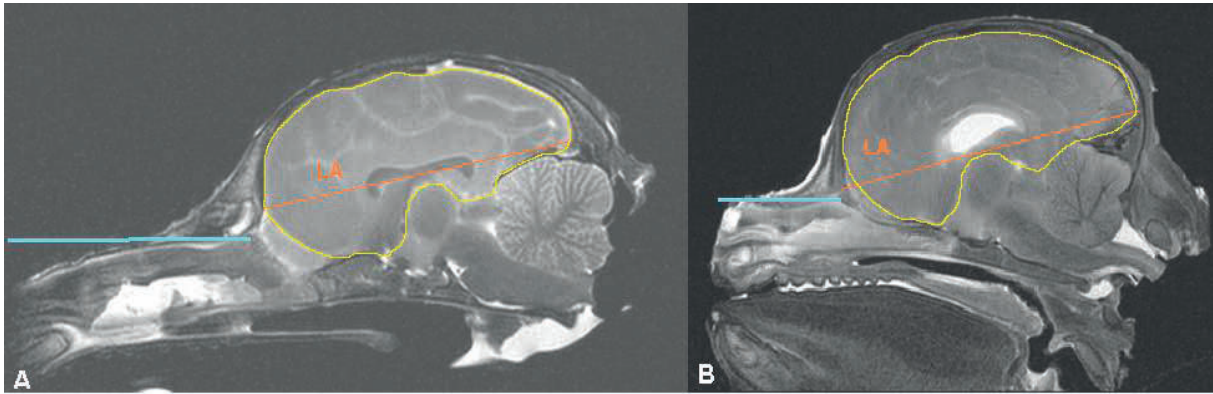
Suturen (JONES 2006). Mentale Behinderungen, Hypotonie und Anfälle sind beschrieben. Des Weiteren zeigen die Patienten Störungen des pyramidalen Systems im Sinne eines Verlustes der Feinmotorik und vermehrter Ungeschicklichkeit (ELIA 1996). Im Bereich des zentralen Nervensystems beschreiben verschiedene MRT-Studien Gehirnatrophien mit prominenten Gyri und Sulci, einen verminderten Kontrast zwischen grauer und weißer Substanz, eine vergrößerte Cisterna magna vermutlich sekundär zu einem unterentwickelten cerebellären Vermis, periventriculäre Hypointensitäten vermutlich sekundär zu perinataler Hypoxie, sowie eine abnormale aufrechte Position des Corpus callosum (RAYBOUD 2007, ELIA 1996, GABRIELLI 1989). Dennoch sind auch physiologische MRT Befunde möglich (ELIA 1996).

## **2.7. Anatomische Veränderungen der Schädelform beim Hund**

Unterschiede der Schädelmorphologie bei Haustieren wurden bisher wenig beschrieben und wenn unter dem Begriff der Brachycephalie zusammengefasst. Der Begriff „Brachycephalie“ beschreibt eine Kurz- oder Rundköpfigkeit mit abgeflachtem Hinterkopf (PSYCHREMBEL 2010). Im Verlauf der Domestikation des Hundes (*Canis lupus familiaris*) zeigt sich eine erhebliche Veränderung des Körperbaus und der Schädelkonformation im Vergleich zum Wolf, mit einem breiten morphologischen Spektrum innerhalb der verschiedenen Rassen (LÜPS und HUBER 1968, EVANS, 1993; POLLINGER et al., 2005). Die verschiedenen Rassen werden bereits im 19. Jahrhundert erstmalig anhand morphologischer Kriterien in drei Gruppen eingeteilt (ELLENBERGER und BAUM, 1891). Brachyzephale, mesozephale und dolichocephale Hunde. Hunderassen mit kurzem, breitem Kopf werden als brachyzephal und Hunde mit einem langgezogenen, schmalen Kopf als dolichocephal bezeichnet. Der Begriff mesozephale entwickelte sich später und bezeichnet eine Form die zwischen den bereits beschriebenen Extremen liegt (BREHM et al., 1985). Zur Gruppe der brachyzephalen Hunde gehören zum Beispiel Mops, Chihuahua, Malteser, französische Bulldogge, und der Boston Terrier. Anhand morphometrischer Messungen computertomographischer Aufnahmen wird auch der Cavalier King Charles Spaniel dieser Gruppe zugeordnet (SCHMIDT et al., 2011). Anders als beim

Menschen wird die Brachycephaly im Allgemeinen nicht als Produkt einer pathologischen Schädelentwicklung angesehen, sondern oft als ein Extrem im Rahmen eines physiologischen Spektrums an Schädelentwicklungen verstanden. Diese Sichtweise wird aber zunehmend revidiert.

Der Schädel zeigt bei brachyzephalen Rassen nicht nur eine verkürzte Schnauze sondern weitere deutliche anatomische Abweichungen im Vergleich zum Schädel mesozephaler Hunde. Die Abknickung der Dorsallinie und ein Fehlen der Crista sagittalis externa zeigt sich bei der lateralen Betrachtung des Schädels (ELLENBERGER und BAUM 1891, NICKEL et al. 2004a). Das Fehlen der Crista sagittalis externa wird durch die Lineae temporales kompensiert, diese dienen hier ersatzweise dem Ansatz der Kaumuskulatur (ELLENBERGER und BAUM 1891, EVANS 1993). Das Viscerocranium ist im Vergleich zu mesozephalen Hunden bei brachyzephalen deutlich verkürzt. Das Neurocranium ist verbreitert und erscheint kugelig. Es kommt des Weiteren zu einer sichtbaren Abflachung im Bereich der Fossae temporales, an denen jeweils der Musculus temporalis entspringt (NICKEL et al. 2004a). Der Arcus zygomaticus verläuft deutlich weiter nach lateral als bei mesozephalen Hunden, wodurch eine breitere Kopfform entsteht (ELLENBERGER und BAUM 1891). Weitere Veränderungen betreffen den Sinus frontalis, der verkleinert oder überhaupt nicht angelegt ist, und bei einigen brachyzephalen Rassen tritt ein Prognathismus inferior auf (EVANS 1993). Nicht nur die knöchernen Strukturen des Schädels sind von den Veränderungen betroffen, auch die Morphologie des Hundehirns, sowie die Weichteilstrukturen des Kopfes zeigen starke rassetypische Variationen. Das Gehirn von dolichocephalen Rassen zeigt eine länglichere Form als bei brachycephalen Hunden und verjüngt sich nach rostral. Bei brachyzephalen Rassen ist das Gehirn von kugelig und gedrungener Gestalt (Abbildung 15). Es kommt zu einer Abrundung des Frontalpols. Die Riechkolben kommen ventral des Frontalpols zu liegen, was zu einem gedrungenen und verkürzt wirkenden Riechhirn und Hirnstamm führt (SEIFERLE 1966). Ein ventrales Abkippen der Longitudinalachse (einer Verbindungslinie zwischen dem rostralsten Anteil des Lobus frontalis und des caudalsten Punktes des Lobus occipitalis) des Gehirnes nach rostral konnte bei brachycephalen Hunden ebenfalls gezeigt werden (Abbildung 15) (ROBERTS 2010).



**Abbildung 15.: T 2 gewichtete, midsaggitale MRT Sequenz über den Schädel eines A) 4 Monate alten mesocephalen Mischlings, B) 1 Monat alter Boxer. LA zeigt die Longitudinalachse nach ROBERTS 2010. Die gelbe Linie hebt das Großhirn hervor und zeigt die abgerundete Form im Falle des brachycephalen Schädels. Die blaue Linie repräsentiert die Länge des Viscerocraniums, welche beim brachycephalen Hund ebenfalls deutlich verkürzt ist.**

Bezogen auf die Weichteilgewebe des Kopfes zeigt sich bei brachycephalen Hunden die Ausbildung stenotischer Nares, einem relativ zur Knochenkonformation verlängerten Gaumensegel, vorgefallenen Stimmtaschen und Tonsillen, sowie eine verengte Stimmritze (ARON und CROWE 1985, WYKES 1991). Zudem kann es aufgrund überschüssiger Haut zu einer vermehrten Faltenbildung im Bereich des Gesichts kommen (MILLER, GRIFFIN und CAMPBELL 2013).

### **2.7.1. Zusammenhang zwischen Brachycephalie und Schädelwachstum**

Die Domestikation des Hundes führte durch die künstliche Selektion einzelner Phänotypen zu den verschiedenen Hunderassen. Im Rahmen dieser künstlichen Selektion und des teilweise geringen Genpools kam es zur Entstehung und Etablierung verschiedener Mutationen und deren phänotypischen Ausprägungen (FONDON und GARNER 2004, POLLINGER et al., 2005). Viele dieser Veränderungen betreffen vor allem den Schädel, was sich in einer hohen Variation der Schädelkonformation bezüglich der Länge und auch den Größenverhältnissen zwischen Neuro- und Viscerocranium äußert (DRAKE und KLINGENBERG 2010). Studien zum Vergleich des Genoms von Hund und Wolf ergaben einen Unterschied im Bereich der mitochondrialen DNS von 0,2 % (WAYNE et al. 1992, HAWORTH et al. 2001). Der Hund ist aufgrund dieses hohen Grades der phänotypischen Variabilität in verhältnismäßig kurzer Zeit und aufgrund nur wenigen bisher identifizierten

genetischen Modifikationen häufig Gegenstand evolutionsbiologischer Studien. Eine interessante Fragestellung, die sich in diesem Zusammenhang ergeben hat, war, ob es sich bei brachycephalen Hunden um pädomorphe Organismen handelt, also um erwachsene Tiere, die jedoch den juvenilen Phänotyp aufgrund extremer Verlangsamung oder Ausfalls von Entwicklungsprozessen bewahren (Heterochrony). Ein Teil der skeletalen Veränderungen der Hunderassen lässt sich mit den Prinzipien heterochroner Entwicklungsmodifikationen schlüssig erklären (RAFF und WRAY 1989). Bei der Ausprägung der Reduktion des Gesichtsschädels und der Stauchung der Schädelkapsel können diese Gesetze allerdings keine Anwendung finden (DRAKE 2011). Ebenso wenig kann der Einfluss allometrischer Faktoren die Schädelform der Hunde nicht ausreichend begründen. Zwar sind die meisten brachycephalen Hunde kleiner als mesocephale Hunde, dies kann die Reduktion einzelner Schädelanteile aber nur zu knapp einem Drittel erklären. Bei modernen Hunden hat sich eine Neustrukturierung von Viscero- und Neurocranium ergeben. Die Aufwölbung der Oberkieferregion (Klinorhynchie) und die Invagination des Gesichtsschädels in Richtung Neurocranium sind zu keinem Entwicklungszeitpunkt ein morphologisches Charakteristikum des Wolfes oder anderer mesocephaler Hunderassen und lassen sich daher nicht mit heterochroner Entwicklungsmechanik erklären (DRAKE 2011). Darüber hinaus haben erwachsene und juvenile brachycephale Hunde einen cranial index (Verhältnis von Neurocraniumlänge zu -breite), der den von juvenilen Wölfen bei weitem übertrifft (DRAKE 2004).

Ein großer Anteil der Schädelmodifikation wird also nicht physiologischen Prozessen zugeordnet. Eine mögliche Ursache dieser Verkürzung ist die verfrühte Verknöcherung der Wachstumsfugen der Schädelbasis. Von den drei Synchronosen der Schädelbasis ist hauptsächlich die Synchronosis sphenoccipitalis am Längenwachstum beteiligt (MAO und NAH, 2004). Verschiedene Gründe für das ausbleibende Längenwachstum der Schädelbasis und des Viscerocraniums werden diskutiert. Der ateliotische oder auch hypophysäre Dwarfismus wird vor allem bei Yorkshire Terriern und Chihuahuas als Ursache der Brachycephalie diskutiert (STOCKARD 1941). Bei dieser Form der Kleinwüchsigkeit kommt es zu einer proportional gleichermaßen Verkleinerung des Kopfes und der Gliedmaßen. Die Veränderungen sind durch eine angeborene Störung der Wachstumshormonausschüttung im Bereich der Hypophyse bedingt. Eine ausbleibende Differenzierung von ektodermalen Zellen zu hormonbildenden Zellen der



Hypophyse, durch den es zu einem Mangel an GH (growth hormon) kommt, wird vermutet. Betroffene Rassen sind des Weiteren Weimaraner, Spitz, Miniatur Pinscher und Labrador Retriever. Beim Deutschen Schäferhund wird ein autosomal- rezessiver Erbgang vermutet (NELSON und COUTO 2006).

Die Achondroplasie repräsentiert eine weitere Form der Wachstumsstörung und somit ebenfalls eine mögliche Ursache für einen verfrühten Fugenschluss im Bereich der Schädelbasis (MONTAVON 2000). Die enchondrale Ossifikation ist hier gestört und führt dadurch zu einer Fehlfunktion im Längenwachstum der langen Röhrenknochen. Histologisch zeigt sich die Reservezone des Knorpels verbreitert und die hypertrophe Zone schmaler im Vergleich zum physiologischen Knorpel. Die Proliferationszone enthält vermehrt extrazelluläre Matrix und eine typische, säulenartige Formation der Chondrozyten existiert nicht (MARTINEZ et al. 2007). Als typische Rassen sind hier Dackel, Welsh Corgi und Basset zu nennen, bei denen es vor allem zu einer Verkürzung der Gliedmaßen kommt (MARTINEZ et al. 2000). Neben diesen angeborenen Formen der Achondroplasie, welche sich ausschließlich auf das Gliedmaßenskelett bezieht, bestehen weitere Formen, die auch den Schädel in die Wachstumsveränderungen einbeziehen. Zu nennen ist diesbezüglich die canine GM1-Gangliosidose, eine lysosomale Speichererkrankung, die durch eine reduzierte Aktivität der  $\beta$ -Galaktosidase hervorgerufen wird. In den Lysosomen fallen aufgrund dessen vermehrt Glykolipide und Oligosaccharide an. Solche veränderten Lysosomen lassen sich unter anderem in den Chondrozyten nachweisen, bei betroffenen Tieren zeigt der Knorpel nekrotische Veränderungen. Phänotypisch zeigen sich diese Veränderungen des Knorpelwachstums beim English Springer Spaniel in Form von Dwarfismus (einem verkürztem Gliedmaßenskelett) und einer gedrungenen Schädelform mit dominanter Stirnpartie („frontal bossing“) und Hypertelorismus (ALROY et al., 1992). Da die Knochen der Schädelbasis durch enchondrale Ossifikation entstehen, wird vermutet, dass es hier bei Brachycephalen im Laufe der Entwicklung zu einer verfrühten Ossifikation der Wachstumsfugen kommt und dadurch eine verkürzte Schädelbasis entsteht (STOCKARD 1941). Wie bereits erwähnt endet die Ossifikation der Synchondrosis sphenoccipitalis bei brachycephalen Hunden mit ca. 9,5 Monaten, bei mesocephalen Hunden mit ca. 13,5 Monaten. Beim Cavalier King Charles Spaniel schließt die Synchondrosis sphenoccipitalis bereits mit ca. 5 Monaten (KLINGLER 2013). Die mangelnde Ausdehnung rostro-kaudal muss kompensiert werden, da das wachsende Gehirn ausreichend Platz benötigt. Der Weg

des geringsten Widerstandes für entstehende Druckkräfte ist in laterolateraler Richtung, so dass sich hierdurch die größere Breite des Neurocraniums im Vergleich zur Länge bei Brachycephalen erklärt (EVANS 1993). Die Ursache der Achondroplasie des Menschen ist eine Mutation am Rezeptor des FGF 3, was beim Hund nicht der Fall ist (MARTINEZ et al. 2000).

In den letzten Jahren sind zahlreiche Studien veröffentlicht worden, in denen diverse Gene und Transkriptionsfaktoren beschrieben werden, die während der Ossifikation und deren zeitlicher Koordination eine Rolle spielen bzw. deren Mutation bei Mäusen oder dem Menschen zu Missbildungen im Bereich des Schädels führen (HAWORTH et al. 2001, FONDON und GARNER 2004, SEARS et al., 2007, BANNASCH et al. 2010). Wie bereits erwähnt konnte eine Punktmutation des BMP3 Gens, welches die Ossifikation und Bildung von Synostosen begünstigt, bei brachycephalen Hunden nachgewiesen werden (SCHOENEBECK et al. 2012). Durch vergleichende Untersuchungen am Genom verschiedener Rassen kann eine Mutation in einem der fünf bekannten Gene, die mit der caninen Brachycephalie assoziiert sind, aufgezeigt werden. Es gingen sowohl kleine (Chihuahua, Pekinese) als auch große brachycephale Rassen (Bulldogge, Mastiff) in die Studie ein. Die mutationsbedingten Veränderungen sind unabhängig von der Körpergröße und treten bei allen untersuchten brachycephalen Rassen auf. In diesem Zusammenhang ist aber nicht klar, welche der Schädelkomponenten wie und wann durch die vermuteten Gene beeinträchtigt werden, weshalb eine morphologische Untersuchung von Hunden unterschiedlicher Schädelmorphologie sinnvoll erscheint, die den Zustand der verschiedenen Wachstumsfugen in verschiedenen Altersgruppen untersucht.

### **2.7.2. Kraniometrie zur Bestimmung des Schädeltypus**

Eine Reduktion der Länge des Gesichtsschädels, sowie eine Chondrosynplasie mit Verkürzung der Schädelbasis wurden im Falle der brachycephalen Hunde anhand von Vermessungen verschiedener Hundeschädel bereits gezeigt (HUBER 1974; NUSSBAUMER 1978). Im Laufe der Zeit entwickelten sich verschiedene Messverfahren (Kraniometrie) zur Einteilung der Schädeltypen, diese können anhand von computertomographischen Aufnahmen oder Röntgenbildern vorgenommen

werden. Hierzu werden verschiedene Messpunkte am Schädel definiert (EVANS, 1993). Bei diesen Messpunkten handelt es sich um definierte anatomische Strukturen am Schädel, welche die Genauigkeit und Übertragbarkeit der gemessenen Daten gewährleisten. Die Abstände zwischen den einzelnen Punkten werden vermessen und können anhand verschiedener Quotienten und Kennzahlen (Indizes) ins Verhältnis zueinander gesetzt werden (Tabelle 2). Dies dient der letztendlichen morphometrischen Bestimmung einer Rasse als brachyzephal, mesozephal oder dolichocephal. Der Schädelindex (Skull index) zum Beispiel ergibt sich, indem man die Schädelbreite (größter Abstand zwischen den beiden Arcus zygomaticus) mit 100 multipliziert und das Ergebnis durch die Schädellänge (Abstand zwischen Prosthion und Inion) dividiert (EVANS, 1993). Eine weitere Möglichkeit der Vermessung stellt der kraniofaziale Winkel dar. Er wird anhand von Röntgenaufnahmen, in denen sowohl eine Messlinie durch den harten Gaumen als auch eine weitere entlang der Schädelbasis gelegt wird, bestimmt. Dieser Winkel ist bei brachyzephalen Hunden klein und nimmt mit steigender longitudinaler Ausdehnung des Schädels bei Vertretern brachyzephaler Rassen zu (REGODÓN et al., 1993).

**Tabelle 2.: Ausgewählte kranio-metrische Messpunkte am Schädel (modifiziert nach EVANS, 1993).**

<b>Messpunkte</b>	<b>Erläuterung</b>
<b>Inion</b>	Höchster Punkt der Protuberantia occipitalis externa
<b>Bregma</b>	Kreuzungspunkt der Sutura sagittalis und Sutura coronalis
<b>Nasion</b>	Punkt, an dem die beiden Suturae nasofrontales zusammenlaufen
<b>Prosthion</b>	Rostrales Ende der Sutura interincisiva
<b>Basion</b>	Mitte des ventralen Randes des Foramen magnum

### 2.7.3. Klinische Probleme brachycephaler Rassen

Im Zusammenhang mit diesen morphologischen Veränderungen stehen zahlreiche verschiedene Krankheitsbilder im Bereich des Kopf- und Halses (ASHER 2009, PACKER 2015), auf einige soll hier exemplarisch eingegangen werden. Die bekannteste Problematik stellt das sogenannte Brachycephalen-Syndrom dar. Dieser Begriff bezieht sich auf eine Verlegung der oberen Atemwege durch überschüssiges Weichteilgewebe, welches sich nicht entsprechend proportional der Schädelverkürzung mit anpasst (WYKES 1991, HARVEY 1989). Im Zuge dieser Veränderungen des Schädels besteht bei brachycephalen Rassen ein 38-fach erhöhtes Risiko einer Atemwegsobstruktion (NJIKAM 2009). Diese Obstruktion der Atemwege zeigt sich, wie bereits erwähnt, in Form von stenotischen Nares, einem verlängerten Gaumensegel, vorgefallenen Stimmtaschen und Tonsillen, einer verengten Stimmritze und kann bei betroffenen Tieren in verschiedenen Ausprägungen vorliegen (ARON und CROWE 1985, WYKES 1991). Beschriebene Symptome sind ein Stridor pharyngealis, Atemnot, verminderte Stress- und Leistungstoleranz, Schlafapnoe und in schwerwiegenden Fällen kann es zusätzlich zu Zyanosen und Kollaps des Patienten kommen (KOCH 2003, WIESTNER 2007). Durch die mangelnden Ventilationsmöglichkeiten ist bei betroffenen Hunden des Weiteren auch die Thermoregulation mit beeinträchtigt, sodass ein höheres Risiko für einen Hitzschlag besteht (PACKER 2012). Die klinischen Symptome des Brachycephalen-Syndroms sind jedoch nicht nur auf die Atemwege beschränkt. Sekundär zu der chronischen Atemnot kann es zu einem chronischen Unterdruck im Thorax kommen, welcher zu gastrointestinalen Läsionen führt und somit Symptome wie Regurgitieren und Erbrechen hervorruft (PONCET 2005). Zudem zeigen sich bei Hunden brachycephaler Rassen auch vermehrt ophthalmologische Erkrankungen. Hunde mit einem craniofacialen Quotienten unter 0,5 haben zum Beispiel ein 20-fach erhöhtes Risiko für Hornhautulzerationen (Cornea ulcus) (PACKER 2015). Dermatologische Probleme werden insbesondere durch die überschüssige Haut im Gesichtsbereich verursacht, welche bei brachycephalen Hunden zu einer vermehrten Faltenbildung führt. Im weiteren Verlauf können sich im Zwischenraum dieser Falten Entzündungen (Intertrigo) bilden (MILLER, GRIFFIN und CAMPBELL 2013).

Verglichen mit mesocephalen Schädelkonformationen zeigen sich bei brachycephalen Rassen gehäuft erweiterte Ventrikelräume, im Sinne einer Ventriculomegalie

(SCHRÖDER 2006, VULLO 1997). Diese Veränderungen wurden lange als nicht klinisch relevante, charakteristische, jedoch nicht pathologische Befunde für brachycephale Hunderassen beschrieben (LU 2003, DRIVER 2013). Eine Studie aus dem Jahr 2015 von SCHMIDT et al. führte volumetrische Analysen des Ventrikelsystems und der grauen und der weißen Substanz anhand rekonstruierter MRT-Bilder durch und errechnete die jeweils relativen Volumina bezogen auf die Gesamtmasse des Gehirns und setzte die graue und weiße Substanz ins Verhältnis zueinander. Alle Parameter korrelierten mit dem jeweiligen Körpergewicht der Hunde. Des Weiteren zeigte sich ein höheres relatives Liquorvolumen, sowie ein verminderter Quotient zwischen weißer und grauer Substanz für Hunde mit Ventrikulomegalie. Bei näherer Betrachtung zeigt sich, dass vor allem die weiße Substanz im Rahmen einer Ventrikulomegalie abnimmt, das relative Volumen der grauen Substanz variierte zwischen den beiden Gruppen kaum. Insgesamt sprechen die Ergebnisse dafür, dass es sich bei der Ventrikulomegalie eher um einen pathologischen Zustand, als um eine Normvariante handelt (SCHMIDT 2015). In der Humanmedizin sind Erweiterungen der Ventrikelräume zum Beispiel im Zusammenhang mit Craniosynostosen beschrieben (COLLMANN 1988). Betroffene Kinder zeigen oftmals geistige Beeinträchtigungen oder eine verminderte Lernfähigkeit (DA COSTA 2006, PROUDMAN 1995, PATTON 1988). Diese Symptome sind in der Veterinärmedizin jedoch bislang nicht objektiv fassbar.

#### **2.7.4. Beurteilung des Fugenschlusses**

Zur Beurteilung des Fugenschlusses bestehen verschiedene Möglichkeiten. Zum einen kann die Sutura am Schädelpräparat beurteilt werden. Dies fand bislang vor allem in der Forensik der Humanmedizin, sowie in anthropologischen Fragestellungen Anwendung (MEINDL und LOVEJOY 1985, LYNNERUP und JACOBSEN 2003, SAHNI 2005, BEDNAREK 2005, SABINI und ELKOWITZ 2006). Am lebenden Objekt wurden in älteren Arbeiten Röntgenuntersuchungen der Basis cranii in Form von Laminogrammen herangezogen (JULIEN et al., 1957; POWELL und BRODIE, 1963). Aufgrund der Überlagerungen der Wachstumsfugen im 2D Bild mit anderen Strukturen sind diese Methoden jedoch eher als ungenau zu bewerten. In den letzten Jahren wurden die Möglichkeiten der Schnittbilddiagnostik (MRT und CT) zur Beurteilung der

Suturen und Synchrondrosen immer mehr genutzt (POLLACK 1997, OKAMOTO et al., 1996; NAKAMURA et al., 1999, SMITH 2002, KLINGLER 2013). Neueste Studien verwenden hier sogar Mikro-CT-Scanner mit einer Auflösung von 10 bis 75µm (COREGA 2010, ANDERSON 2006). Mit dieser Methode ist es möglich quantitative Messungen, Beurteilungen der Knochenkonfiguration und der Suturenmorphologie zu erstellen. In einer Studie konnte die Sutura sagittalis von Kindern mit und ohne Craniosynostosen im Mikro-CT-Scanner genau dargestellt und mit Befunden aus der Histologie verglichen werden. Es zeigte sich, dass in diesem Fall das µm-CT mehr Aufschluss über die Suturenmorphologie gibt als die Histologie (REGELSBERGER 2012).

#### **2.7.5. Klinisch-Morphologische Untersuchungen zum Fugenschluss bei Hunden**

Studien über die Morphologie und den ontogenetischen Veränderungen der Suturen und Synchrondrosen und deren Auswirkungen auf den Schädeltyp sind vergleichsweise selten. Eine Studie mit bildgebenden Verfahren verglich die Synchrondrosen der Schädelbasis meso- und brachycephaler Hunderassen im MRT und zeigte, dass die Ossifikation der Synchrondrosis sphenooccipitalis bei brachycephalen Hunden mit ca. 9,5 Monaten und bei mesocephalen Hunden mit ca. 13,5 Monaten stattfindet. Eine Besonderheit fand sich beim Cavalier King Charles Spaniel, hier schließt die Synchrondrosis sphenooccipitalis bereits mit ca. 5 Monaten (SCHMIDT 2013). Beim Hund wurde der verfrühte Schluss dieser Fuge als eine Ursache für die brachycephale Schädelform der Tiere verantwortlich gemacht. Die Autoren stellen aber die Grenzen der bildgebenden Verfahren für die Beurteilung der Studie heraus, da bei einer in der MRT oder CT vermeintlich offenen Fuge unklar ist, ob sie tatsächlich noch mitogene Aktivität hat. Eine Studie zur Überprüfung der Genauigkeit der bildgebenden Verfahren im Vergleich zu den histologischen Befunden wurde angeregt.

## **2.8. Ziel der Studie**

Ziel der hier durchgeführten Studie ist es die Untersuchbarkeit der Suturen und Synchondrosen im MRT und CT zu ermitteln und mit den histologischen Befunden zu vergleichen. Sowohl die Sensitivität als auch die Spezifität von MRT und CT sollen anhand des Vergleichs der einzelnen Suturen und Synchondrosen mit der Histologie ermittelt werden. Zudem soll der Einfluss der Schädelkonformation, brachy- oder mesocephal, sowie der Einfluss des Alters auf den Fugenschluss untersucht werden.

## **3. Material und Methoden**

### **3.1 Untersuchungsgut**

Die untersuchten Schädel wurden von brachy- und mesocephalen Hunden unterschiedlicher Rassen sowie unterschiedlichen Alters und Geschlechts entnommen (Tabelle 3.). Der größte Teil der Hunde ist unter einem Jahr alt (0 bis 3640 Tage). Die Schädel stammen aus der Klinik für Kleintiere Chirurgie und Innere Medizin, der Klinik für Gynäkologie, Andrologie und Geburtshilfe und dem Institut für Veterinärpathologie der Justus-Liebig-Universität Giessen. Zum Teil sind die Schädel aus dem Archiv von Prof. Dr. Martin. J. Schmidt. Bei den untersuchten Tieren handelt es sich um solche, die aus medizinischen Gründen euthanasiert wurden, oder verstorben sind.

### **3.2. Entnahme der Oberschädel und Fixierung**

Unmittelbar nach der Euthanasie wurden die Köpfe am Atlantooccipitalgelenk abgesetzt. Die Schnitte erfolgten hinter dem Occiput und im 90° Winkel zu den caudalen Manibularästen durch den Hals. Der Schädel wurde enthäutet und der M.

temporalis, sowie der M. masseter wurden beidseits abpräpariert. Mit zwei horizontalen Schnitten medial entlang der ventralen Unterkieferäste und mit zwei weiteren Schnitten durch das Kiefergelenk wurden Unterkiefer und Zunge entfernt. Der Schädel wurde in 8% Formaldehyd-Lösung (Formalin) eingelegt und fixiert.

### 3.3. Voruntersuchungen mittels CT und MRT

Die abgesetzten und fixierten Köpfe wurden sowohl in der Computertomographie (CT Phillips) (Abbildung 16) und in der Magnetresonanztomographie (MRT Phillips, 1 Tesla) (Abbildung 17) gescannt.

In der Magnetresonanztomographie erfolgten T2 gewichtete Sequenzen in der dorsalen, transversalen und sagittalen Ebene. In den T2 gewichteten Sequenzen wurde eine Schichtdicke von 2mm und eine Gap von 0,2mm verwendet. Des Weiteren erfolgten T1 FFE gewichtete Sequenzen in der dorsalen und transversalen Ebene mit einer Schichtdicke von 1mm, ohne Gap.

**Tabelle 3.: Daten der Hunde, deren Schädel mittels CT und MRT gescannt wurden und von denen Proben für die weiteren histologischen Untersuchungen entnommen wurden. Aufgeführt sind die Patientennummern, die dazugehörigen Rassen, das Alter in Tagen sowie das Geschlecht: Nb= nicht bekannt, M= Männlich, MK=Männlich kastriert, W=weiblich.**

Patienten Nr.	Rasse	Alter (Tage)	Geschlecht
1	Dackel	35	Nb
2	Bernhardiner	1	Nb
3	Spitz	1	Nb
4	Zwergspitz	70	Nb
5	Französische Bulldogge	2	Nb
6	Berger de Pyrenne	3	Nb
7	Galgo espanol	3640	Mk
8	Mischling mesocephal	112	Nb
9	Beagle	98	W
10	Collie Langhaar	84	W
11	Jack Russel Terrier	84	Nb
12	Mischling mesocephal	1092	W
13	ShiTzu	280	M
14	Mops	84	Nb
15	Deutscher Schäferhund	1092	M
16	Mops	56	M
17	Deutscher Schäferhund	112	M



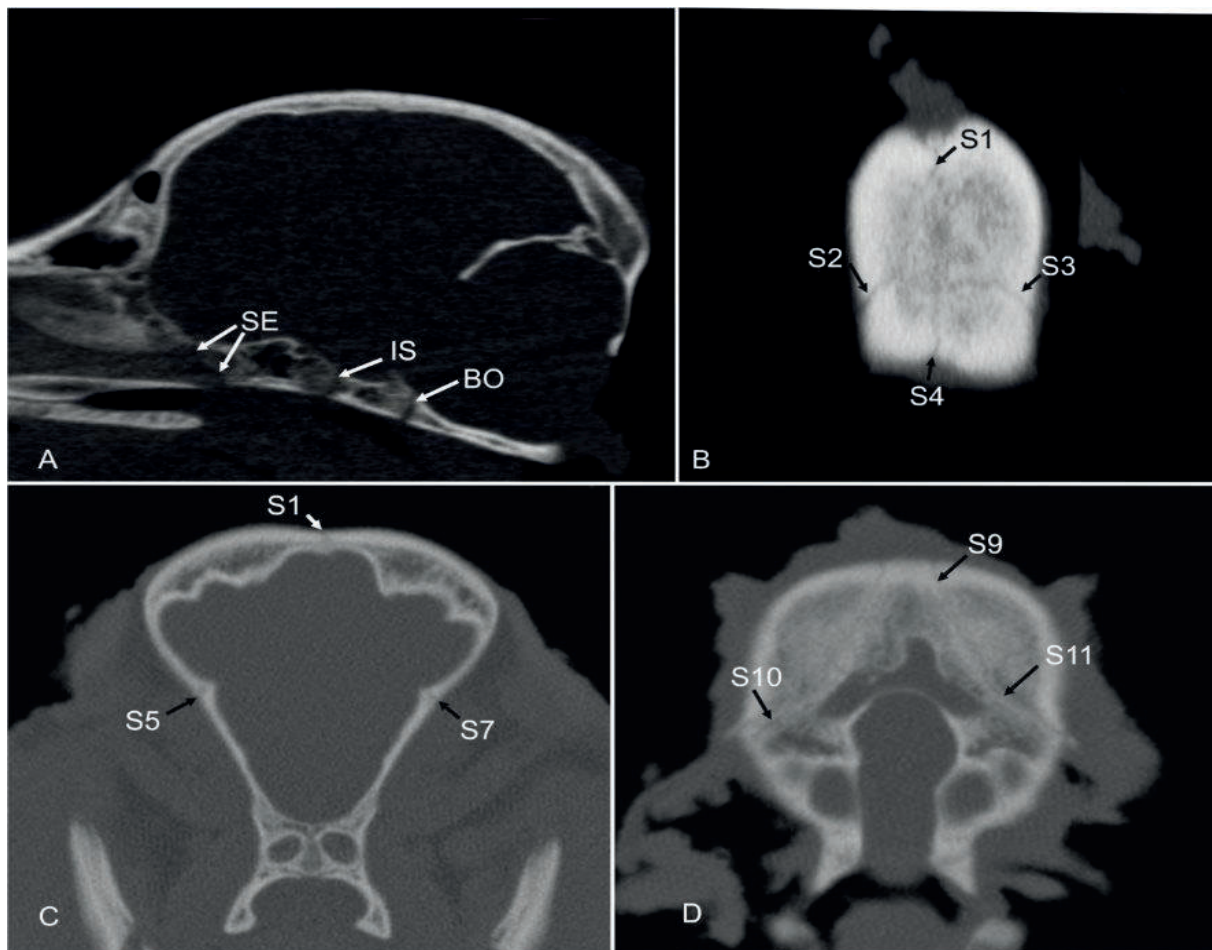
18	Mops	362	M
19	Pekinese	1456	Nb
20	Mischling mesocephal	112	W
21	Prager Rattler	196	M
22	Cavalier King Charles Spaniel	1	Nb
23	Cavalier King Charles Spaniel	1	Nb
24	Cavalier King Charles Spaniel	1	Nb
25	Französische Bulldogge	2	Nb
26	Mischling brachycephal	140	Nb
27	Chihuahua	1	Nb
28	Chihuahua	84	Nb
29	Chihuahua	56	Nb
30	Amerikanische Bulldogge	0	W
31	Amerikanische Bulldogge	0	W
32	Whest highland White Terrier	35	W
33	Deutscher Schäferhund	0	W
34	Deutscher Schäferhund	7	W
35	Shiba Inu	168	Nb
36	Irischer Wolfshund	3	W
37	Golden Retriever	28	W
38	Deutscher Schäferhund	126	Nb
39	Zwergdackel	0	M
40	Mischling mesocephal	0	Nb

Die computertomographischen Aufnahmen wurden in der transversalen Ebene mit einem 16 Zeiler CT (Philips Brilliance 16) angefertigt. Es wurde eine Schichtdicke von 0.8mm, 120kV und 321mA für die Aufnahmen genutzt. Das field of view betrug 133.0mm. Die Daten wurden anhand eines Knochenalgorithmus` berechnet.

Die in Tabelle 3 beschriebenen Suturen und Synchondrosen wurden anhand dieser Aufnahmen von einem Doktoranden (DF) und einem Diplomate des ECVN (European College of Neurology) (MS) ausgewertet. Die jeweiligen Wachstumsfugen wurden hiernach als "offen", "partiell geschlossen", oder "geschlossen" beurteilt. Die Untersuchungen wurden anonymisiert und randomisiert durchgeführt, Alter und Rasse der untersuchten Schädel waren den Untersuchern nicht bekannt. Des Weiteren wurden die Auswertungen der beiden Untersucher unabhängig voneinander durchgeführt, um die Übereinstimmung zwischen ihnen auswerten zu können. Die Ergebnisse der Schnittbilddiagnostik (MRT und CT) wurden im Anschluss mit den histologischen Befunden abgeglichen.

### 3.3.1. Bewertung der Suturen und Synchondrosen im CT

In der CT wurde eine offene Synchondrose oder Suture als hypodenses Signal zwischen zwei gut begrenzten hyperdensen Knochensignalen im Bereich der Calvarien oder der Schädelbasis definiert (Abbildung 16). Als geschlossene Suture oder Synchondrose wurde ein kontinuierliches hyperdenses Knochensignal ohne Unterbrechung durch ein hypodenses Signal definiert. Partiiell geschlossene Suturen oder Synchondrosen zeichneten sich durch ein nicht kontinuierliches hypodenses Signal und die Anwesenheit von zu Knochen isointensen Brücken innerhalb dieses hypodensen Signals aus.

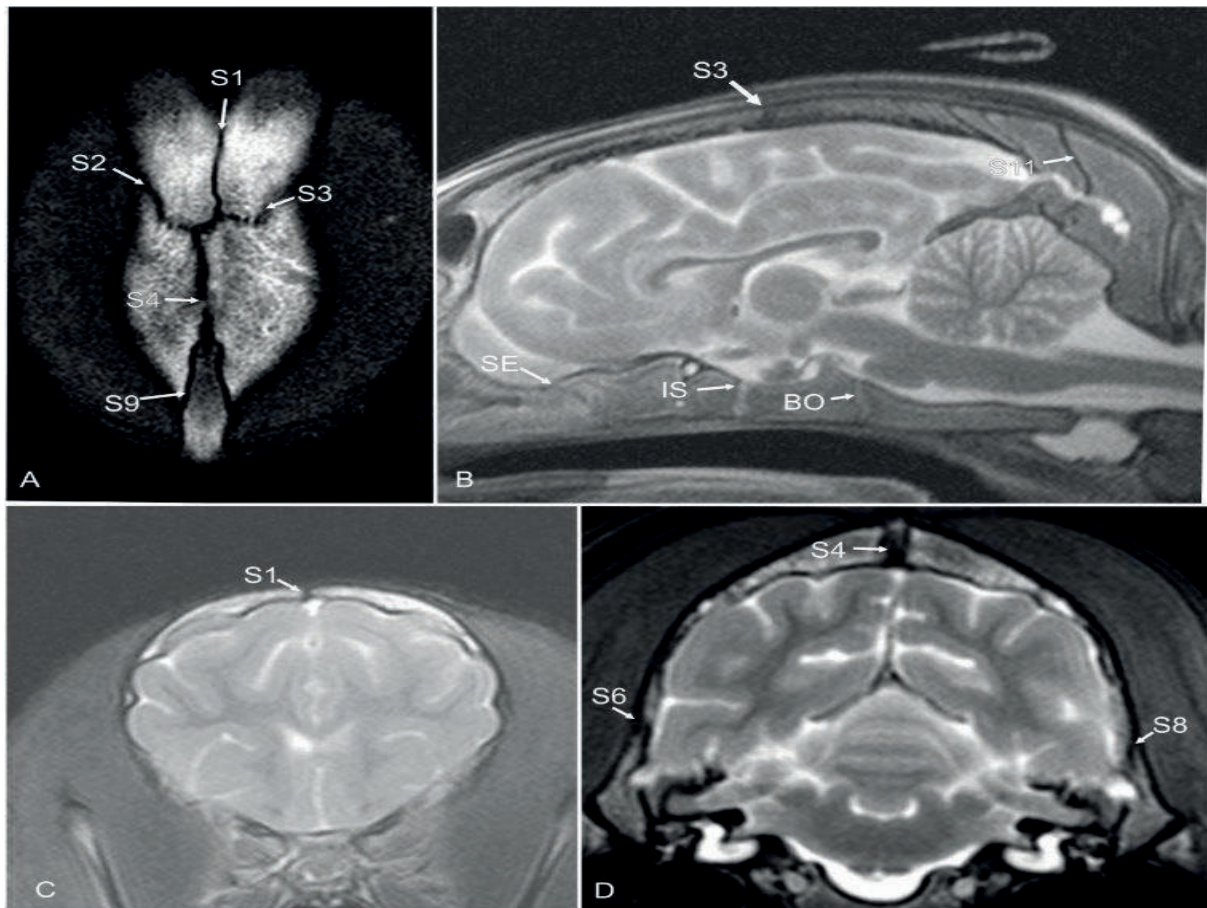


**Abbildung 16.: Computertomographie eines 4,5 Monate alten Schädels eines Deutschen Schäferhundes im Knochenfenster. Midsaggitale Ansicht(A), dorsale Ansicht (B), rostrale Ansicht (C) und caudale Ansicht (D). S1= Sutura interfrontalis, S2/3= linke und rechte Sutura frontoparietalis, S4= Sutura sagittalis, S5/7= linke und rechte Sutura sphenofrontalis, S9= Sutura parietointerparietalis, S10/11=linke und rechte Sutura lamboidea. Schädelbasis: Synchondrosis sphenothmoidalis (SE), Synchondrosis intersphenoidalis (IS) und Synchondrosis sphenoooccipitalis (BO).**

### **3.3.2. Bewertung der Suturen und Synchronosen im MRT**

In der MRT wurde eine offene Suture als hypointense Unterbrechung des hyperintensiven Knochensignals der Calvarien in T2 gewichteten Aufnahmen definiert. Eine offene Synchronose wurde anhand einer breiten, gut begrenzten, hyperintensiven Signalzone (Knorpel) mit ebenfalls gut begrenzten, hypointensen Grenzen (knöchernen Endplatten der Schädelbasis) definiert (Abbildung 17).

Geschlossene Suturen zeichnen sich durch das Fehlen der hypointensen Signalunterbrechung im Bereich der knöchernen Calvaria aus. Geschlossene Synchronosen wurden anhand der Fusion der Synchronose, durch den Ersatz des T2- hyperintensiven Knorpelgewebes und die Entwicklung eines kontinuierlichen, zur Knochenmarkhöhle isointensen Signals definiert. Partieller Fugenschluss wurde anhand knöcherner Brückenbildung innerhalb der Suture oder der Synchronose definiert. Im Fall der Suturen war dies im MRT sichtbar als partiell hypointenses Signal innerhalb des sonst hyperintensiven Knochens. Für die Synchronosen zeigte sich stets ein hypointenses Signal innerhalb des hyperintensiven Knorpelsignals der Synchronose im Zusammenhang mit einer verminderten Breite des Knorpelsignals innerhalb der Synchronose.



**Abbildung 17.: Magnetresonanztomographie in T2 gewichteten Sequenzen eines 4,5 Monate alten Schädels eines Deutschen Schäferhundes. Dorsale Ansicht (A), midsagittale Ansicht (B), rostral-transversale Ansicht (C) und caudal-transversale Ansicht (D). S1= Sutura interfrontalis, S2/3= linke und rechte Sutura frontoparietalis, S4= Sutura sagittalis, S6/8= linke und rechte Sutura squamosa, S9= Sutura parietointerparietalis, S11= rechte Sutura lamboidea. Schädelbasis: Synchondrosis sphenoethmoidalis (SE), Synchondrosis intersphenoidalis (IS) und Synchondrosis sphenooccipitalis (BO).**

### **3.4. Entnahme der Suturen und der Synchondrosen am Schädelknochen**

Für die histologische Untersuchung wurden definierte Proben aus den Suturen und Synchondrosen des Oberschädels entnommen. Diese sind in Tabelle 4. aufgeführt. Die Entnahme der Proben erfolgte mit einer wassergekühlten Bandsäge (diamantiertes Sägeblatt). Zunächst wurde die Schädelkalotte abgesetzt. Hierzu wurde ein horizontaler Schnitt dorsal des Foramen magnums gesetzt und ein weiterer horizontal und dorsal der Orbita. Diese Schnitte wurden mit zwei weiteren Schnitten miteinander verbunden, sodass sich der Oberschädel abheben ließ. Das Gehirn wurde

herausgelöst. Nach Absetzen der Schädelkalotte wurden an dieser paramediane Schnitte gesetzt und quadratische Proben der z.T. gut sichtbaren interfrontalen, coronalen, und saggitalen Suturen (S1-S4) entnommen (Abbildung 18). Der ventrale Teil des Schädels wurde median gesägt, um die Schädelbasis mit den dazugehörigen Synchronosen freizulegen. Die Schädelbasis mit der Synchronosis sphenoccipitalis (BO), Synchronosis intersphenoidal (IS) und Synchronosis sphenoehtmoidalis (SE) wurde nach Möglichkeit als Ganzes entnommen (Abbildung 19), zu große Proben wurden mittig des Basisphenoids geteilt. An beiden ventralen Schädelhälften wurde an der dorsalen und ventralen Verlängerung des Orbitarandes nach caudal gesägt. Aus den erhaltenen länglichen Schädelstücken wurde jeweils eine rostrale und eine caudale Probe entnommen, die Sutura sphenofrontalis sinister und dexter (S5 und S7) und Sutura squamosa sinister und dexter (S6 und S8). Die Entnahme der Sutura parietointerparietalis (S9) erfolgte durch zwei Schnitte parallel zum höchsten Punkt des Occiputs. Rechts und links lateral von S9 erfolgte parallel entlang der Crista nuchae das Heraussägen der Sutura lamboidea (S10 und S11) (Abbildung 18). Durch die Verlängerung der rostralen und caudalen Grenze des vierten Praemolaren nach medial erfolgten die Schnitte zur Entnahme der Suturen des harten Gaumens, Sutura palatina mediana (S12) (Abbildung 19).





Abbildung 18.: Computertomographisch basierte 3D Rekonstruktion eines 5 Wochen alten Dackelschädels in der dorsalen Ansicht (A), frontalen Ansicht (B), links laterale Ansicht (C) und caudale Ansicht (D). S1= Sutura interfrontalis, S2/3= linke und rechte Sutura frontoparietalis, S4= Sutura saggitalis, S5/7= linke und rechte Sutura parietointerparietalis, S6/8= linke und rechte Sutura squamosa, S9= Sutura parietointerparietalis, S10/11= linke und rechte Sutura lamboidea.

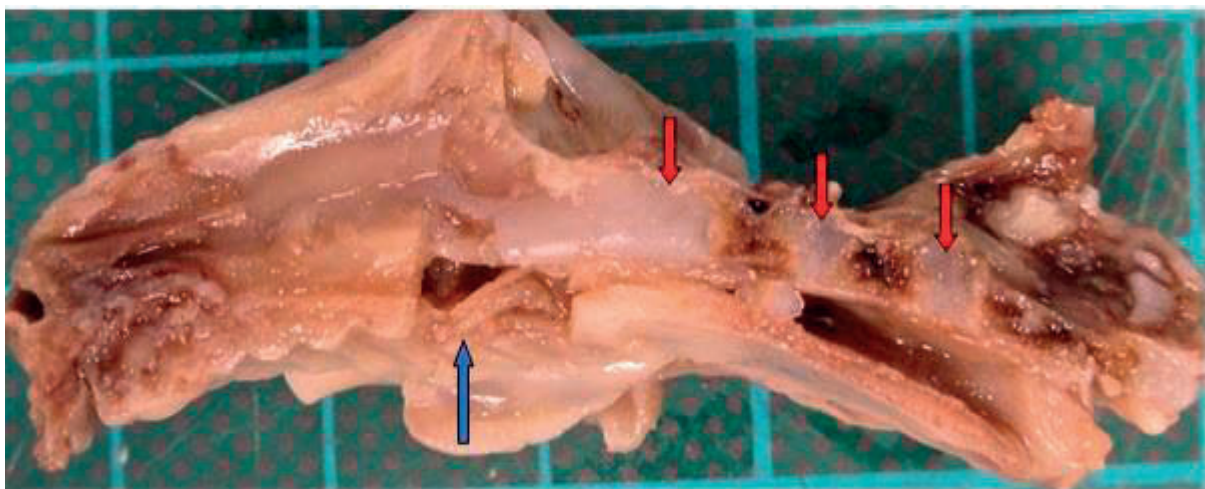


Abbildung 19.: Foto eines Medianschnittes durch die Schädelbasis eines neonatalen Zwergdackels. Die roten Pfeile markieren die Synchondrosen der Schädelbasis. Von links nach rechts: Synchondrosissphenooccipitalis, IS=Synchondrosis intersphenoidalis, SE=

**Synchondrosis sphenothmoidalis.** Der blaue Pfeil deutet auf die Stelle der bereits entnommenen Probe für die Sutura palatina mediana (S12).

**Tabelle 4.: Für die Histologie entnommene Einzelproben der Suturen und Synchondrosen und ihre zugehörigen Knochen.**

Proben-Nr	Sutur-/ Synchondrose	Beteiligte Knochen
S1	Sutura interfrontalis	Ossa frontales
S2	Sutura coronalis sinister	Os frontale und Os parietale
S3	Sutura coronalis dexter	Os frontale und Os parietale
S4	Sutura sagittalis	Ossa parietales
S5	Sutura sphenofrontalis sinister	Os frontale und Os sphenoidale
S6	Sutura squamosa sinister	Os temporale und Os parietale
S7	Sutura sphenofrontalis dexter	Os frontale und Os sphenoidale
S8	Sutura squamosa dexter	Os temporale und Os parietale
S9	Sutura parietointerparietalis	Os interparietale und Os parietale
S10	Sutura lamboidea sinister	Os occipitale und Os parietale
S11	Sutura lamboidea dexter	Os occipitale und Os parietale
S12	Sutura palatina mediana	Ossa palatinae
BO	Synchondrosis sphenoccipitalis	Os sphenoidale und Os occipitale
IS	Synchondrosis intersphenoidalis	Os basisphenoidale und Os praesphenoidale
SE	Synchondrosis sphenothmoidalis	Os ethmoidale und Os sphenoidale

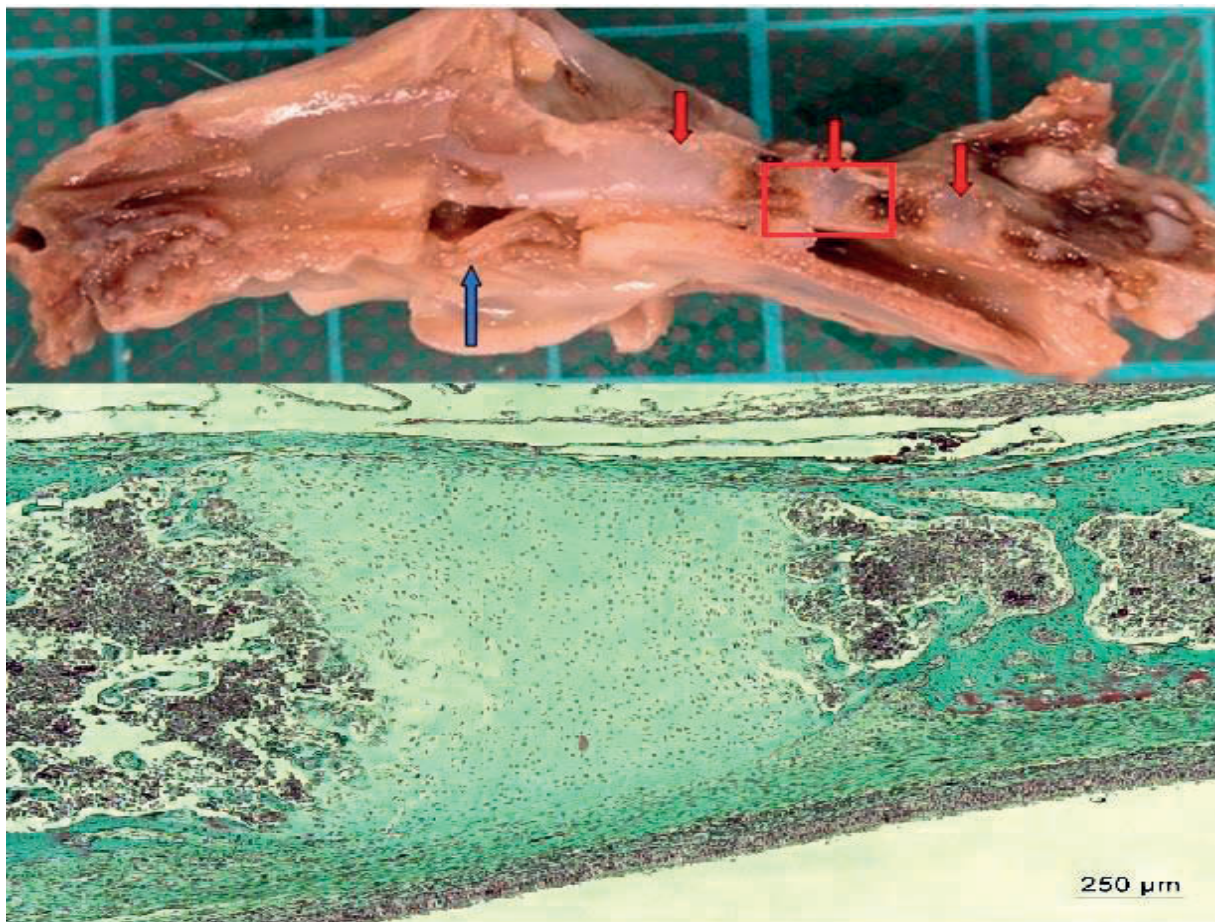
### 3.5 Entkalkung und Einbettung in Paraffin

Die entnommenen Proben wurden in 10ml Probengläschen mit Schraubverschluss für einen Tag in 1% phosphatgepufferter Salzlösung (PBS) eingelegt, um das Formalin herauszuwaschen. Anschließend wurde die Lösung zum entkalken der Proben durch 25% Äthylendiamintetraessigsäure (EDTA), mit einem pH=8 ersetzt. Die EDTA-Lösung wurde zweimal wöchentlich über mindestens vier Wochen gewechselt. Die Proben wurden auf einer Rotorplatte gelagert, welche die Probenpaletten schwenkte. So wurde eine konstante Umspülung der ganzheitlich mit Lösung bedeckten Proben und eine Herauslösung der komplexen Kalziumverbindungen ermöglicht. Der



Entkalkungsvorgang dauerte durchschnittlich vier Wochen. Durch Schnitte mit einer Skalpellklinge wurde der Entkalkungsgrad der Proben kontrolliert. Anschließend wurden die Proben aus ihren Gefäßen in beschriftete Einbettungskästen überführt und über 48 Stunden zunächst in destilliertem Wasser und danach erneut in 1%PBS gewaschen. Anschließend erfolgte die routinemäßige Einbettung in Paraffin (Parablast, Sherwood). Das Ausgießen der Blöcke in frischem Parablast wurde auf einer Heizplatte vorgenommen, um eine genaue Platzierung der einzelnen Proben in dem ansonsten schnell aushärtenden Medium zu ermöglichen.

Pro Hundeschädel wurden nach Möglichkeit 13 Proben entnommen aus denen entsprechende Paraffinblöcke angefertigt wurden. Insgesamt handelt es sich um 520 Probenblöcke.



**Abbildung 20.:** Foto eines Medianschnittes durch die Schädelbasis eines neonatalen Zwergdackels. Die roten Pfeile markieren die Synchondrosen der Schädelbasis. Von links nach rechts: Synchondrosis sphenoccipitalis, IS=Synchondrosis intersphenoidalis, SE=Synchondrosis sphenothmoidalis. Der blaue Pfeil deutet auf die Stelle der bereits entnommenen Probe für die Sutura palatina mediana (S12). Der rote Kasten markiert den im unteren Bild dargestellten histologischen Schnitt der Synchondrosis intersphenoidalis in Masson Goldner Trichrom in 4-facher Vergrößerung.



### **3.6 Herstellung der Paraffinschnitte und Färbungen**

Von jedem Paraffinblock wurden mit einem Schlittenmikrotom (Fabrikat Leica) Gewebeschnitte in Serie angefertigt. Die ca. 5µm dicken Schnitte wurden in einem warmen Wasserbad entfaltet. Jeder Objektträger enthält je nach Probengröße mehrere Einzelschnitte. Diese Schnitte wurden über Nacht zur Trocknung in einem Brutschrank von 37°C aufbewahrt. Im Anschluss wurden die Schnitte nach Standardmethode mit Masson-Goldner Trichrom gefärbt (Abbildung 20).

### **4. Statistische Auswertung**

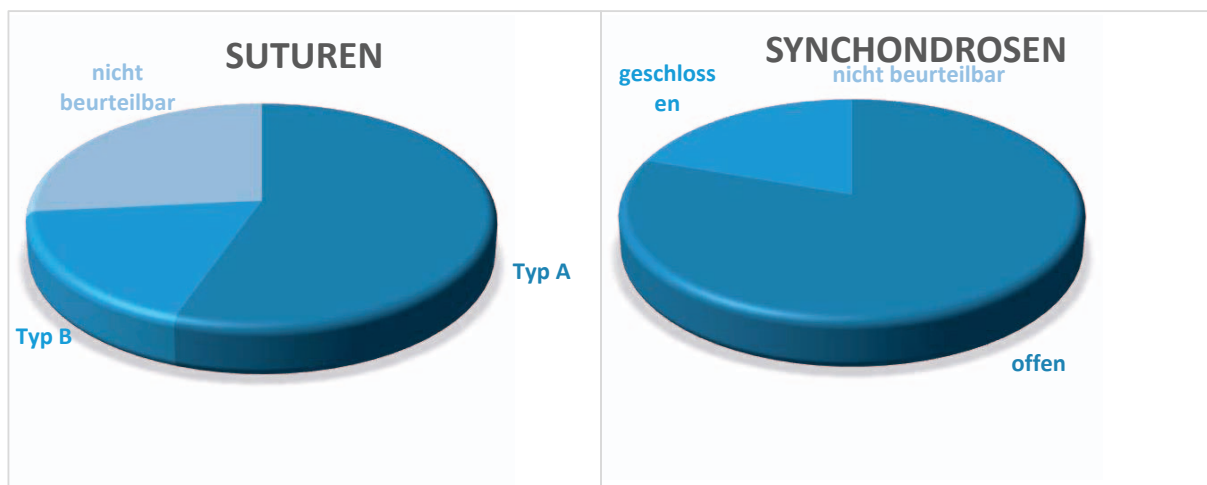
Die statistische Auswertung erfolgte mit dem Softwarepaket BMPD. Die in der Schnittbilddiagnostik (MRT und CT) als "offen" klassifizierten Suturen wurden mit den in der Histologie als offen Typ A Syndesmosen verglichen. Bei Typ B Syndesmosen geht man von einer inaktiven und somit funktionell geschlossenen Wachstumsfuge aus. Diese wurden daher mit den in der Schnittbilddiagnostik als "geschlossen" klassifizierten Suturen verglichen. Partiiell geschlossene Suturen und Synchondrosen erlauben keine longitudinale Ausdehnung mehr und wurden für die statistische Analyse sowohl in der Histologie als auch in der Bildgebung als geschlossen zusammengefasst. Ein exakter Fischer Test wurde durchgeführt um die erhobenen Daten zum Fugenstatus in den verschiedenen Untersuchungsmethoden (CT, MRT, Histologie) zu vergleichen. Des Weiteren wurde der Einfluss des Alters und der Schädelkonformation (brachy- oder mesocephal) anhand einer logistischen Regression berechnet. Die Übereinstimmung zwischen den Untersuchern bei der Beurteilung der MRT- und CT-Befunde wurde mit dem Kappa Koeffizienten überprüft.

## 5. Ergebnisse

### 5.1. Histologie

#### 5.1.1. Zusammenfassende Analyse der histologischen Daten

433 Suturen und 112 Synchondrosen wurden histologisch beurteilt. 240 (55.4%) der untersuchten Suturen wurden als Typ A Syndesmosen, 78 (18%) wurden als Typ B Syndesmosen kategorisiert (Abbildung 21 und 22). In 115 (26.6%) der histologischen Proben konnte keine Suture innerhalb der entnommenen Probe detektiert werden. Im Falle der Synchondrosen waren alle 112 Schnitte auswertbar. Davon wurden 90 (80.4%) Synchondrosen als "offen" und 22 (19.6%) als "geschlossen" klassifiziert (Abbildung 21). 22 Suturen und 5 Synchondrosen die in der CT und MRT beurteilt wurden sind im Verlauf der Probenaufarbeitung verloren gegangen und konnten somit nicht in die histologische Beurteilung mit einfließen.



**Abbildung 21.: Kreisdiagramm zur Darstellung des Status der Suturen und Synchondrosen in der Histologie. Typ A Syndesmosen und offene Synchondrosen sind dunkelblau, Typ B Syndesmosen und geschlossene Synchondrosen sind blau dargestellt. Hellblau hinterlegt ist der Anteil nicht beurteilter Proben.**

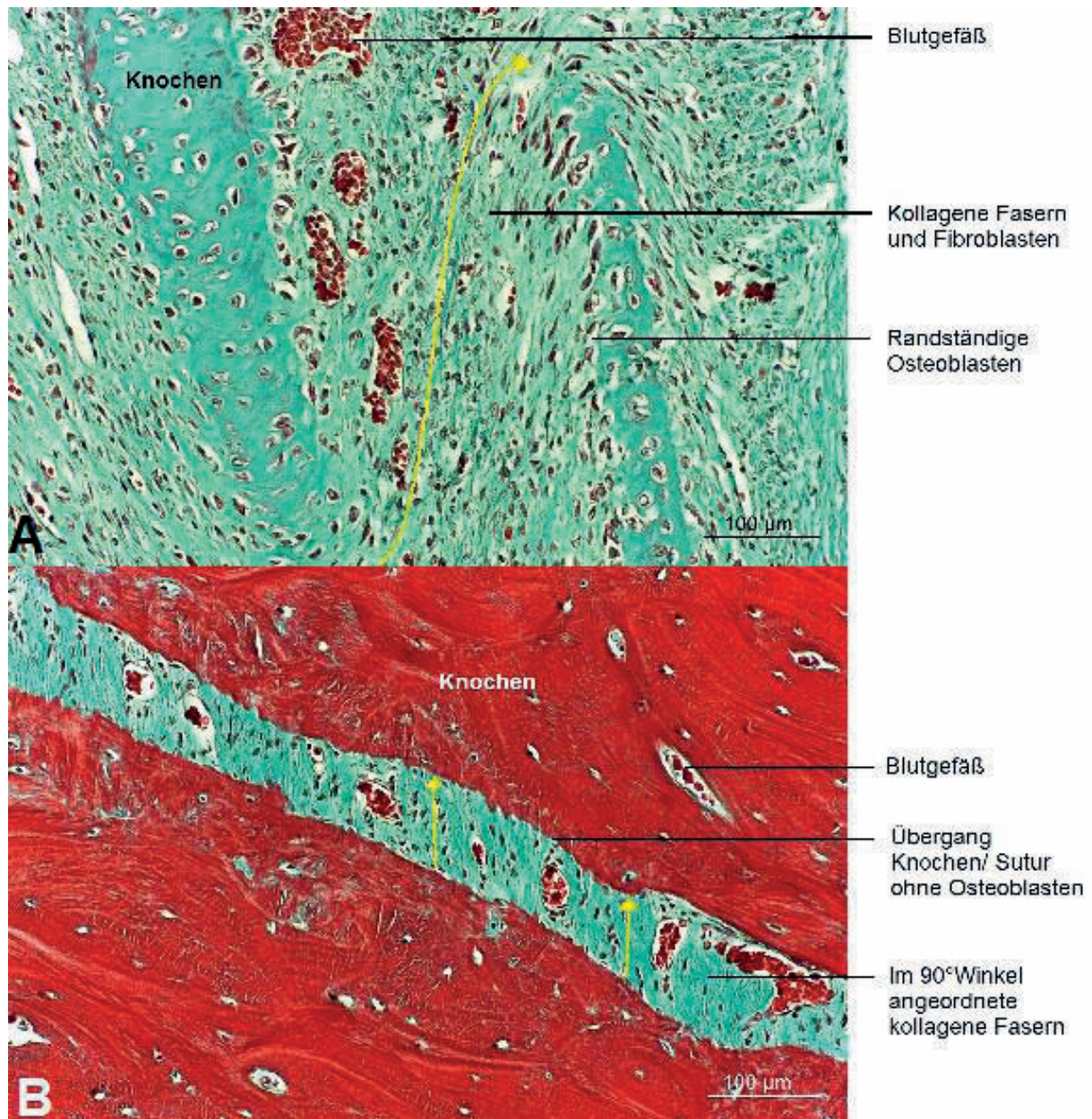
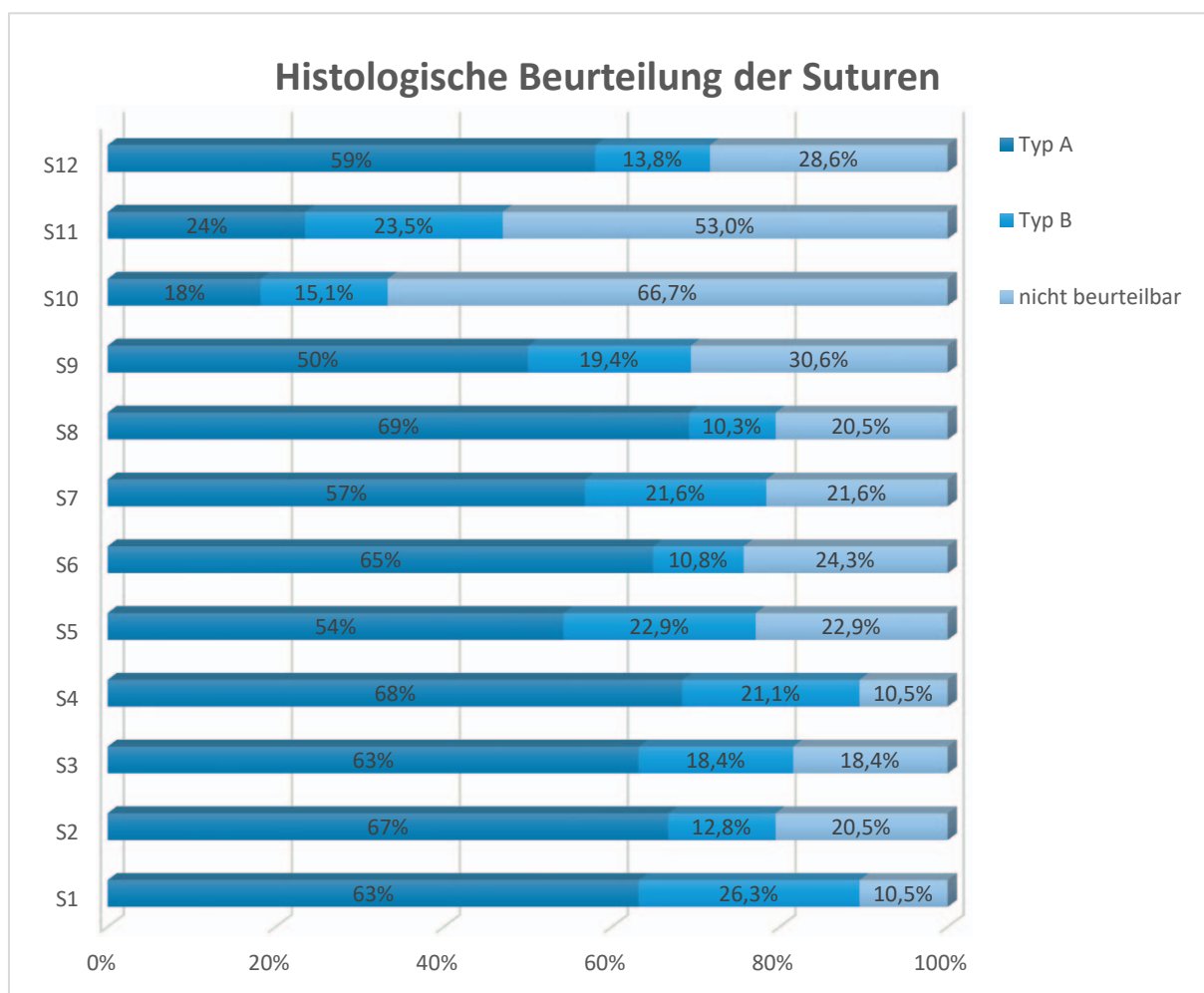


Abbildung 22.: Histologische Schnitte Masson Goldner Trichrom gefärbt in der 20-fachen Vergrößerung. A) Sutura sagittalis eines 1 Tag alten Bernhardiners. Dargestellt ist eine Typ A Syndesmose mit zum Sutureverlauf parallel ausgerichteten kollagenen Fasern. B) Sutura interfrontalis eines 10 Jahre alten Galgo espanols Dargestellt ist eine Typ B Syndesmose, mit Verlauf der kollagenen Fasern im 90° Winkel zum Sutureverlauf. Die gelben Pfeile verdeutlichen jeweils den Verlauf der kollagenen Fasern.

### 5.1.2. Individuelle Suturen Beurteilung in der Histologie

Die rechte und linke Sutura lamboidea wurde in 18.18 - 25.53% als Typ A und in 15.15 – 23.53% als Typ B Syndesmose klassifiziert (Abbildung 23).

In einem überwiegenden Anteil der untersuchten Proben (52.94-66.67%) konnte jedoch keine Sutura identifiziert werden. Von diesen in der Histologie nicht auswertbaren lambdoiden Suturen (22/33 für S10, 18/34 für S11) konnten 45.45 – 58.52% auch im CT und 54.55 (S10) - 66.67% (S11) auch im MRT nicht identifiziert werden. 18.18-25% von den histologisch nicht beurteilbaren Suturen wurden im CT als “geschlossen” beurteilt (Abbildung 23). Bezogen auf die anderen untersuchten Suturen konnten in über 50% (50-69.23%) die Suturen als Typ A und in 13.79- 26.32% die Suturen als Typ B eingeordnet werden. Lediglich in 18.42- 30.56% konnte keine Sutura in der Probe festgestellt werden (Abbildung 23).



**Abbildung 23.:** Balkendiagramm zur individuellen, prozentualen Auswertung der offenen, geschlossenen und nicht beurteilbaren Synchondrosen. S1= Sutura interfrontalis, S2= Sutura coronalis sinister, S3= Sutura coronalis dexter, S4= Sutura saggitalis, S5= Sutura sphenofrontalis sinister, S6= Sutura squamosal sinister, S7= Sutura sphenofrontalis dexter, S8= Sutura squamosal dexter, S9= Sutura interparietalis, S10= Sutura lamboidea sinister, S11= Sutura lamboidea dexter, S12= Sutura palatina mediana, BO= Synchondrosis sphenoccipitalis, IS= Synchondrosis intersphenoidalis, SE= Synchondrosis sphenothmoidalis.



### 5.1.3. Individuelle Synchondrosen Beurteilung in der Histologie

37 Basioccipitale Synchondrosen wurden untersucht. In der histologischen Untersuchung wurden 31 (83.78%) davon als “offen” und 6 (16.22%) als “geschlossen” beurteilt. Von den 38 untersuchten intersphenoidalen Synchondrosen wurden 32 (84.21%) als “offen” und 6 (15.79%) als “geschlossen” beurteilt. Bei der Synchondrosis sphenothmoidalis lagen 37 Proben vor. Hiervon konnten 27 (72.97%) als “offen” und 10 (27.03%) als “geschlossen” beurteilt werden (Abbildung 24 und 25).

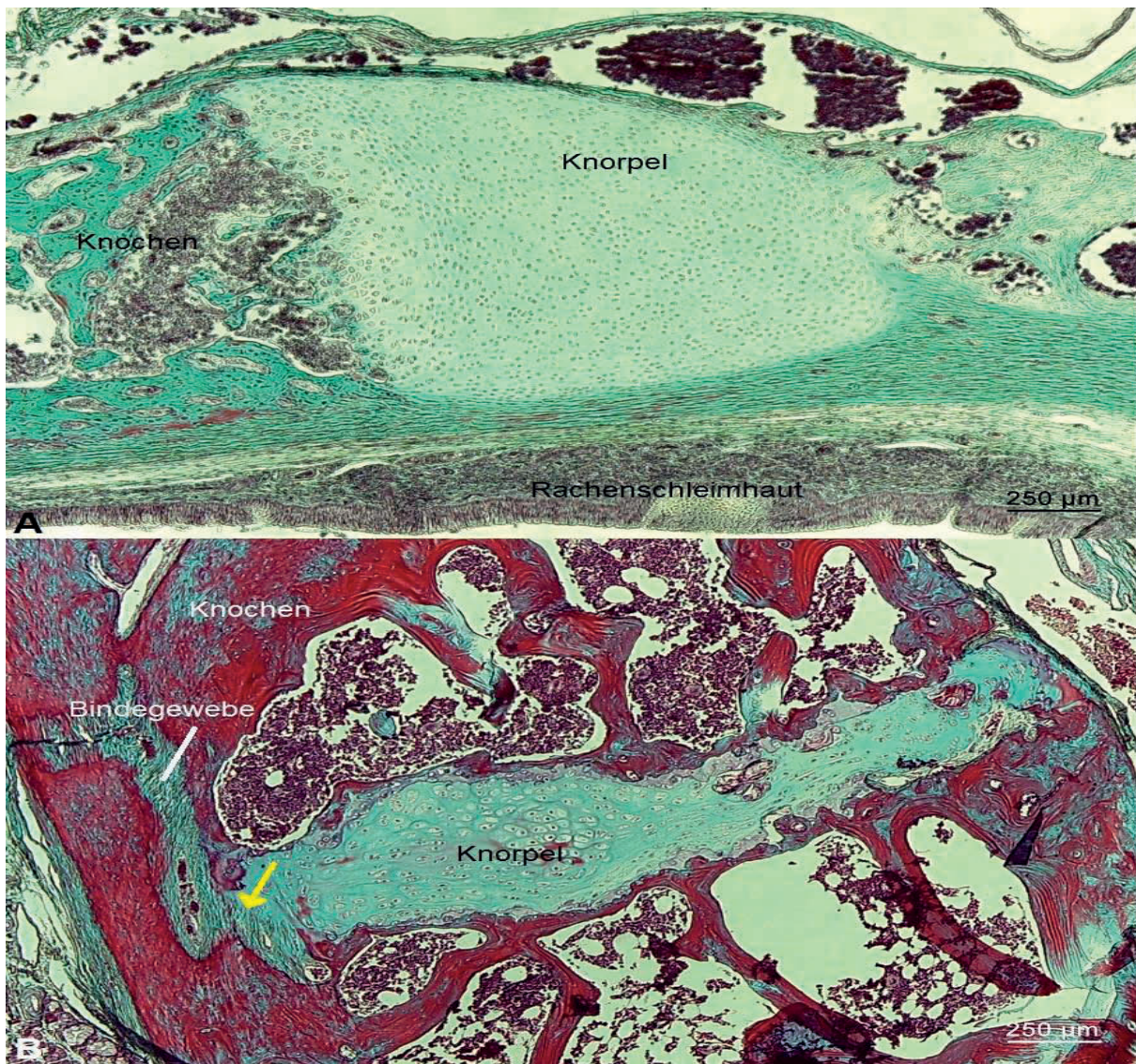
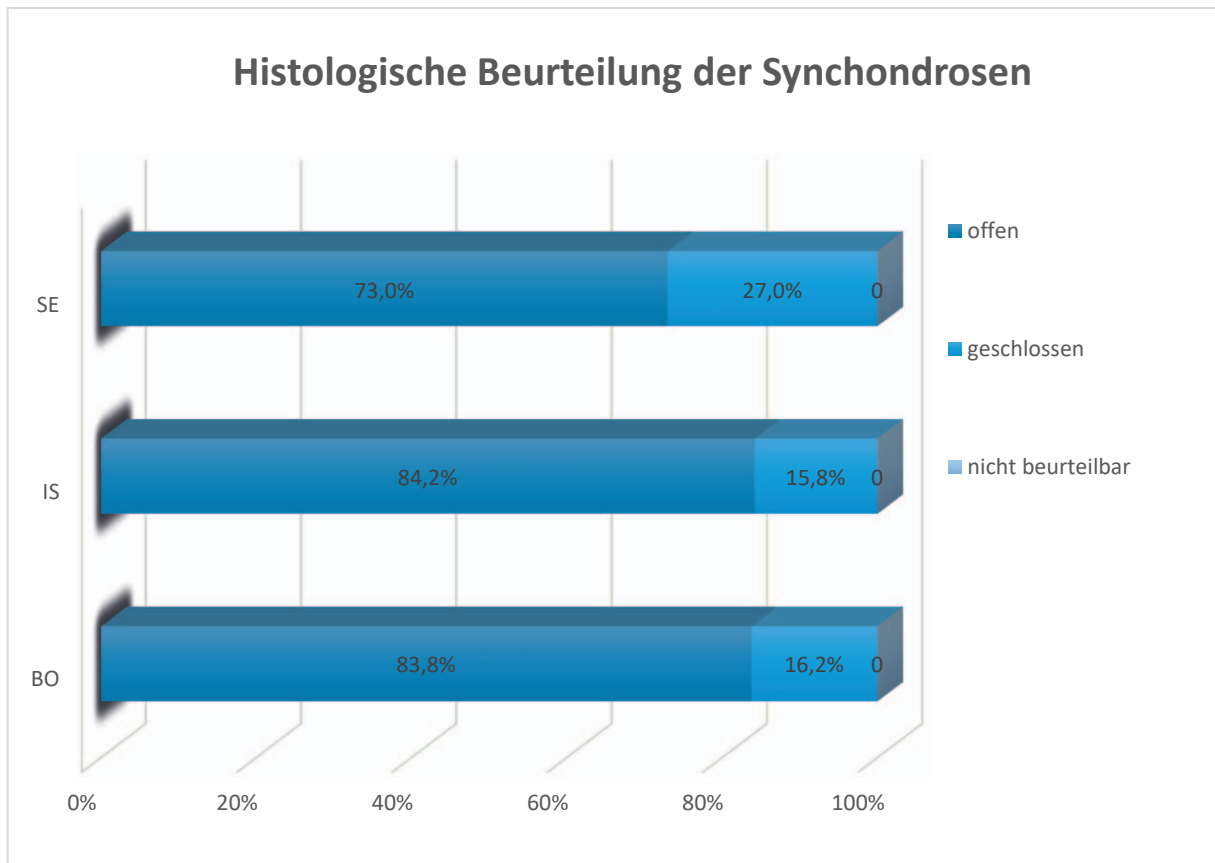


Abbildung 24.: Histologische Schnitte in Masson Goldner Trichrom gefärbt und in 20-facher Vergrößerung: A) offene Synchondrosis basioccipitalis eines neonatalen Chihuahuas mit durchgängigem Knorpelgewebe innerhalb der Synchondrose. B) partiell schließende Synchondrosis intersphenoidalis eines 5 Monate alten brachycephalen Mischlings, der gelbe Pfeil markiert innerhalb der Synchondrose den Übergang von Knorpel- zu Bindegewebe.



**Abbildung 25.: Balkendiagramm zur individuellen, prozentualen Auswertung der offenen, geschlossenen und nicht beurteilbaren Synchondrosen der Schädelbasis in der Histologie: BO= Synchondrosis sphenoccipitalis, IS= Synchondrosis intersphenoidalis, SE= Synchondrosis sphenothmoidalis.**

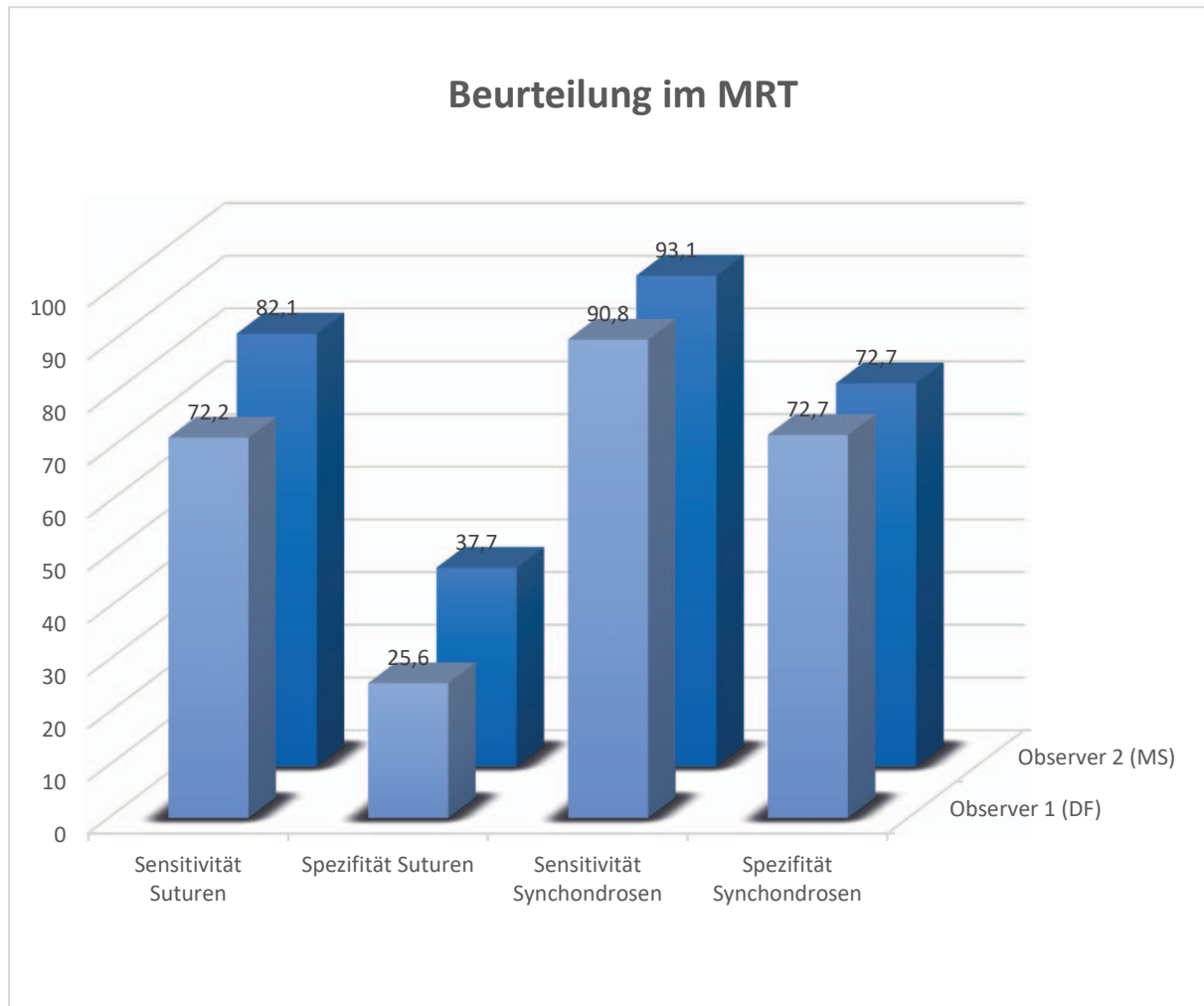
## 5.2. Magnetresonanztomographie

### 5.2.1. Zusammenfassende Analyse in der Magnetresonanztomographie

455 Suturen und 117 Synchondrosen wurden mittels Schnittbilddiagnostik untersucht. Im MRT wurden in Abhängigkeit vom Untersucher 273 (DF) bis 304 (MS) Suturen und 87 (DF) bis 89 (MS) Synchondrosen als offen klassifiziert. 40 (DF) zu 45 (MS) der Suturen und 24 (MS) bis 29 (DF) der Synchondrosen wurden in Abhängigkeit vom Untersucher als geschlossen beurteilt. Abhängig vom jeweiligen Untersucher konnten von 455 untersuchten Suturen 106 (MS) bis 142 (DF) im MRT nicht beurteilt werden. Bei den 117 untersuchten Synchondrosen konnten 1 (DF) bis 4 (MS) Synchondrosen nicht beurteilt werden. Eine Sensitivität und Spezifität von über 80% wird im nachfolgenden als hoch, zwischen 65- und 79% als moderat und unter 64% als gering bezeichnet.

### 5.2.2. Zusammenfassende Beurteilung der Suturen in der Magnetresonanztomographie

Die MRT Beurteilung zeigte eine untersucherabhängige moderate bis hohe Sensitivität von 72.2 (DF) – 82.1 % (MS) (Konfidenzintervall über 95% (KI) 66- 86.7%) und eine geringe Spezifität von 25.6 (DF)– 37.7 % (MS) (KI 16.4- 49.4%) (Abbildung 26).



**Abbildung 26.: Säulendiagramm zur Darstellung der prozentualen Sensitivität und Spezifität der Suturen und Synchondrosen in Abhängigkeit der jeweiligen Observer (DF)/ (MS) in der Magnetresonanztomographie.**

### 5.2.3. Individuelle Beurteilung der Suturen in der Magnetresonanztomographie

Eine moderate bis hohe Sensitivität 70-85% (KI 35.7- 93.6%) und eine geringe Spezifität von 25- 50% (KI 3.2- 84.3%) zeigte sich für die rechte sphenofrontale Sutur ( $p$  0.0017 (MS);  $p$  0.0392 (DF)) für beide Untersucher. Die Sutura interfrontalis und



beide coronalen Suturen zeigten eine hohe Sensitivität und eine geringe Spezifität, eine statistische Signifikanz war jedoch nur für einen Untersucher (MS) gegeben. Für den Untersucher (MS) zeigte sich eine Sensitivität von 95.8% (KI 78.9 -99.9%) und eine Spezifität von 20% (KI 2.5 -85.3%) für die Sutura interfrontalis (p 0.0483); eine Sensitivität von 80.8% (KI 60.6 -93.4%) und Spezifität von 40% (KI 5.2 -85.3%) für die linke Sutura coronalis (p 0.0109); und eine Sensitivität von 78.3% (KI 56.3 -92.5%) und Spezifität von 28.6% (KI 3.7-84.3%) für die rechte Sutura coronalis (p 0.0395) (Tabelle 5). Eine moderate Sensitivität von 66.7% (DF) bis 77.8% (MS) (KI 41.0 -77.8%) und eine geringe Spezifität von 28.6% (DF) bis 42.9% (MS) (KI 3.6%-81.6%) wurde für die Sutura interparietalis gezeigt (p 0.05 (DF); 0.0103 (MS)). Eine moderate Sensitivität von 76.5% (KI 77.9 -99.2%) und eine hohe Spezifität von 75% (DF) bis 100% (MS) (KI 35.9 -100%) wurde für die Sutura palatina mediana gezeigt (p 0.0186(DF); 0.0018 (MS)) (Tabelle 5). Die lamboiden Suturen zeigten eine Sensitivität von 50% bis 100% und eine Spezifität von 20% bis 25%, jedoch ohne statistische Signifikanz (p 0.1282 (MS) zu 1 (DF)) (Tabelle 5).

#### **5.2.4. Individuelle Beurteilung der Synchondrosen in der Magnetresonanztomographie**

90.8- 93.1% der beurteilten Synchondrosen wurden korrekt als offen beurteilt (KI 82.7- 94.2%) und 72.7% wurden korrekt als geschlossen beurteilt (KI 49.8- 89.3%) (Abbildung 25). Alle Synchondrosen zeigten eine hohe Übereinstimmung der histologischen und magnetresonanztomographischen Befunde mit einer Sensitivität von 93.3% (KI 77.9- 99.2%) und einer Spezifität von 83- 100% (KI 35.9 -100%) für die basioccipitale Synchondrose (p 0 (MS); 0.003 (DF)). Eine hohe Sensitivität von 93.5 % (KI 78.6 -99.2%) und geringe Spezifität von 50% (MS) bis 66.7% (DF) (KI 11.8 -95.7%) für die intersphenoidale Synchondrose (p 0.0031 (DF); 0.0104 (MS)). Für die sphenoethmoidale Synchondrose zeigt sich ebenfalls hohe Sensitivität von 84.6% (DF) bis 92.3% (MS) (KI 65.1 -95.6%) und eine moderate Spezifität von 70% (KI 34.8 -93.3%) (p 0.0002 (MS); 0.0032 (DF)) (Abbildung 26).



**Tabelle 5.: MRT Sensitivität und Spezifität in Bezug auf die Beurteilbarkeit der Suturen und Synchondrosen für beide Untersucher unter Angabe der jeweiligen Konfidenzintervalle von über 95%. Observer 1 (DF) and Observer 2 (MS).**

<b>Sutur/ Synchondrose</b>	<b>O1 Sensitivität</b>	<b>Konfidenz- intervall &gt;95%</b>	<b>O1 Spezifität</b>	<b>Konfidenz- intervall &gt;95%</b>	<b>P- Wert</b>
S1	87.5%	67.6-97.3%	20%	2.5-55.6%	0.1949
S2	76.9%	56.4-91.0%	20%	0.5-71.6%	0.2391
S3	73.9%	51.6-89.8%	28.6%	3.6-71.0%	0.2340
S4	88%	86.8-97.5%	25%	3.2-65.1%	0.0999
S5	61.6%	35.7-82.7%	25%	3.2-65.1%	0.0831
S6	52.2%	30.6-73.2%	25%	0.6-80.6%	0.2571
S7	70%	45.7-88.1%	25%	3.2-65.1%	0.0392
S8	73.1%	52.2-88.4%	25%	0.6-80.6%	0.0952
S9	66.7%	41.0-86.7%	28.6%	3.6-71.0%	0.0500
S10	66.7%	22.3-95.7%	20%	0.5-71.6%	0.4286
S11	50%	15.7-84.3%	12.5%	0.3-52.7%	1
S12	76.5%	50.1-93.2%	75%	19.4-99.4%	0.0186
BO	93.3%	77.9-99.2%	83%	35.9-99.6%	0.0030
IS	93.5%	78.6-99.2%	66.7%	22.3-95.7%	0.0031
SE	84.6%	65.1-95.6%	70%	34.8-93.3%	0.0032
<b>Sutur/ Synchondrose</b>	<b>O2 Sensitivität</b>	<b>Konfidenz- intervall &gt;95%</b>	<b>O2 Spezifität</b>	<b>Konfidenz- intervall &gt;95%</b>	<b>P- Wert</b>
S1	95.8%	78.9-99.9%	20%	2.5-55.6%	0.0483
S2	80.8%	60.6-93.4%	40%	5.2-85.3%	0.0109
S3	78.3%	56.3-92.5%	28.6%	3.7-71.0%	0.0395
S4	84%	63.9-95.5%	25%	3.2-65.1%	0.1068
S5	77.8%	52.4-93.6%	50%	15.7-84.3%	0.0114
S6	69.9%	47.1-86.8%	50%	6.8-93.2%	0.0797
S7	85%	62.1-96.8%	50%	15.7-84.3%	0.0017
S8	80.8%	60.6-93.4%	50%	6.8-93.2%	0.0200
S9	77.8%	52.4-93.6%	42.9%	9.9-81.6%	0.0103
S10	100%	60.7-100%	20%	0.5-71.6%	0.3333
S11	100%	68.8-100%	25%	15.7-84.3%	0.1282
S12	76.5%	50.1-93.2%	100%	36.8-100%	0.0018
BO	93.3%	77.9-99.2%	100%	60.7-100%	0
IS	93.5%	78.6-99.2%	50%	11.8-88.2%	0.0104
SE	92.3%	74.9-99.1%	70%	34.8-93.3%	0.0002

**S1= Sutura interfrontalis, S2= Sutura coronalis sinister, S3= Sutura coronalis dexter, S4= Sutura saggitalis, S5= Sutura sphenofrontalis sinister, S6= Sutura squamosal sinister, S7= Sutura sphenofrontalis dexter, S8= Sutura squamosal dexter, S9= Sutura interparietalis, S10= Sutura lamboidea sinister, S11= Sutura lamboidea dexter, S12= Sutura palatina mediana, BO= Synchondrosis sphenoccipitalis, IS= Synchondrosis intersphenoidalis, SE= Synchondrosis sphenothmoidalis.**

### 5.2.5. Übereinstimmung der Untersucher in der Magnetresonanztomographie

In Abhängigkeit von den jeweiligen Suturen zeigte sich eine Übereinstimmung zwischen den Untersuchern von 70.3% (KI 53- 84.1%) bis 94.9% (KI 82.7 -99.4%). Für die Sutura sphenofrontalis sinister und dexter ( $\chi^2 = 0.832$ ; 1), Sutura squamosa sinister und dexter ( $\chi^2 = 0.832$ ; 1), Sutura lambdoidea ( $\chi^2 = 1$ ), Sutura interparietalis ( $\chi^2 = 1$ ) und die Sutura palatina mediana ( $\chi^2 = 0.869$ ) zeigte sich eine vollkommene Übereinstimmung der Ergebnisse zwischen den Untersuchern. Im Falle der Sutura interfrontalis ( $\chi^2 = 0.784$ ), Sutura coronalis beidseits ( $\chi^2 = 0.649$ ) und der Sutura sagittalis ( $\chi^2 = 0.714$ ) konnte eine beachtliche Übereinstimmung zwischen den Untersuchern erreicht werden.

Bezüglich der Synchronosen der Schädelbasis zeigt sich ebenfalls eine hohe Übereinstimmung zwischen den Untersuchern. Diese war für die Synchronosis intersphenoidalis ( $\chi^2 = 0.894$ ) vollkommen. Für die Synchronosis basioccipitalis ( $\chi^2 = 0.771$ ) und sphenothmoidalis ( $\chi^2 = 0.745$ ) konnten beachtliche Übereinstimmungen zwischen den Untersuchern erreicht werden.

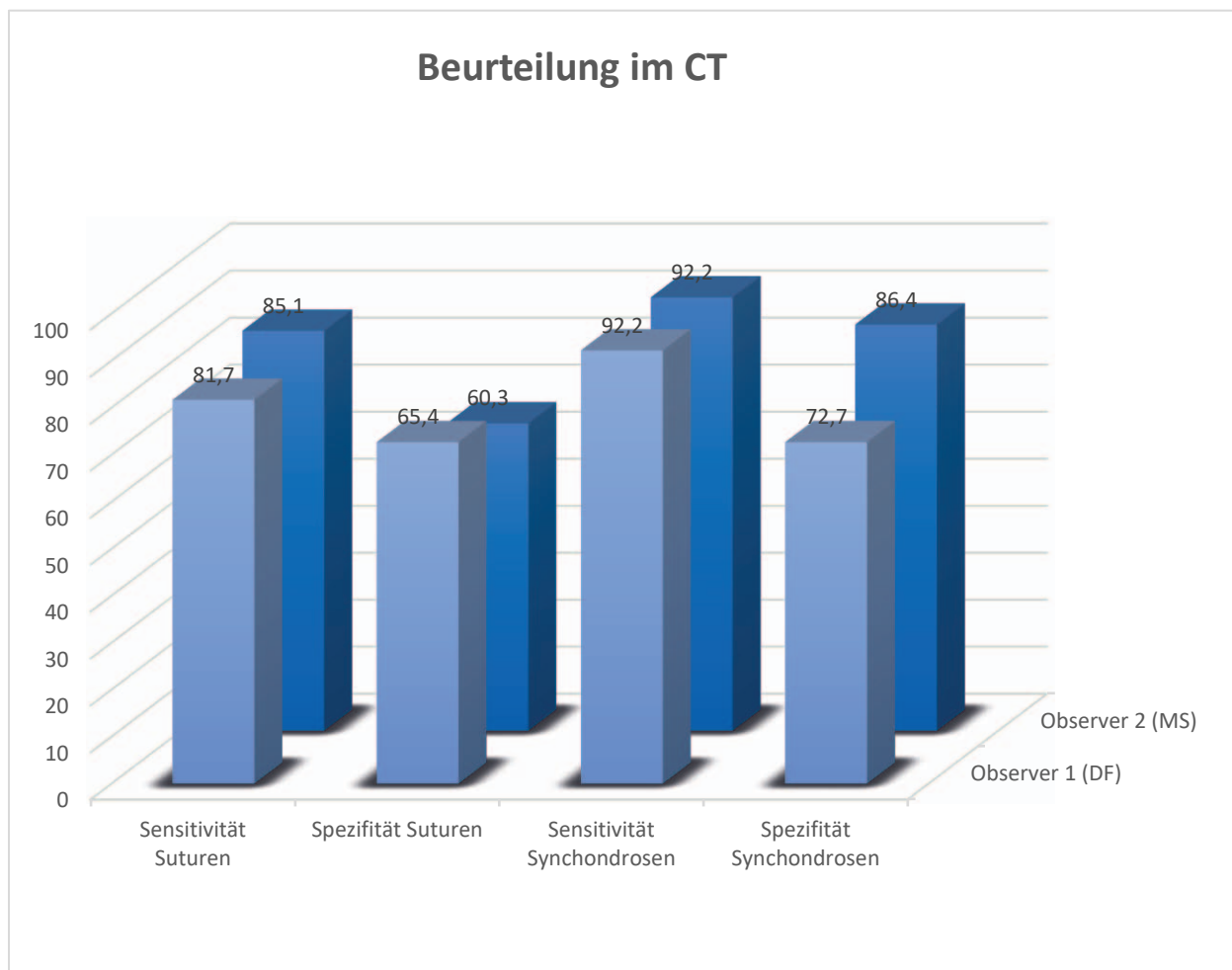
## 5.3. Computertomographie

### 5.3.1. Zusammenfassende Analyse in der Computertomographie

455 Suturen und 117 Synchronosen wurden im CT beurteilt. 312 (DF) bis 333 (MS) Suturen und 84 (DF) bis 85 (MS) Synchronosen wurden in Abhängigkeit der Untersucher als "offen" klassifiziert. 91 (MS) bis 106 (DF) der untersuchten Suturen und 31 (MS) bis 33 (DF) der untersuchten Synchronosen wurden in Abhängigkeit der Untersucher als geschlossen klassifiziert. Von 455 untersuchten Suturen waren 31 (MS) bis 37 (DF) in der Computertomographie nicht beurteilbar. 1 (MS) von 117 untersuchten Synchronosen war in der Computertomographie nicht beurteilbar. Eine Sensitivität und Spezifität von über 80% wird im nachfolgenden als hoch, zwischen 65- und 79% als moderat und unter 64% als gering bezeichnet.

### 5.3.2. Zusammenfassende Beurteilung der Suturen in der Computertomographie

Die computertomographischen Befunde stimmten in Abhängigkeit vom Untersucher in 59,9% bis 60% (KI 55.1-64,7%) der Fälle mit den histologischen Befunden überein. Die computertomographische Beurteilung der Suturen zeigte in Abhängigkeit vom Untersucher zusammenfassend eine hohe Sensitivität von 81.7 (DF) -85.1% (MS) (KI 76,2-89.3%), aber eine geringe Spezifität von 60.3 (DF) -65.4 % (MS) (KI 48.5-75.8%) (Abbildung 23). In Abhängigkeit vom Untersucher konnte der Suturenstatus in 31 (DF) -37 (MS) von 455 Suturen (6.8-8.1%) nicht ermittelt werden. Insgesamt konnten 1.8% bis 3 % von den nicht beurteilbaren Suturen auch in histologischen Proben nicht detektiert werden (Abbildung 27).



**Abbildung 27.: Säulendiagramm zur Darstellung der prozentualen Sensitivität und Spezifität der Suturen und Synchondrosen in Abhängigkeit der jeweiligen Observer (DF)/ (MS) in der Computertomographie**

### 5.3.3. Individuelle Suturenbeurteilung in der Computertomographie

Eine hohe Sensitivität und Spezifität konnte für die Sutura coronalis beidseits, die rechte Sutura sphenofrontalis und squamosa und die Sutura palatina mediana gezeigt werden. Eine Sensitivität von 80.8% (DF) -84.6% (MS) (KI 60.6-95.6%) und eine Spezifität von 80% (DF)-100% (MS) (KI 28.4-100%) für die linke Sutura coronalis (p 0.0002 (MS); 0.0034 (DF)) und eine Sensitivität von 83.3 % (KI 62.6 -95.2%) und eine Spezifität von 85.7% (KI 42.1-99.6%) für die rechte Sutura coronalis (p 0.0004). Die rechte sphenofrontale Sutura ergab eine Sensitivität von 85.7% (KI 63.7-97%) und eine Spezifität von 75% (KI 34.9-96.8%), (p 0.0018). Die Sensitivität der rechten Sutura squamosa lag bei 81.5% (KI 61.9-93.7%) und die Spezifität bei 75% (KI 19.4-99.4%), p 0.0138. Im Fall der Sutura palatina mediana zeigte sich eine Sensitivität von 94.4 (MS) bis 100% (DF), (KI 83.3-99.9%) und eine Spezifität von 75% (KI 60.7-100%) (p 0.0003). Bei der Untersuchung der linken Sutura sphenofrontalis und der Sutura interparietalis beidseitig ergab sich eine moderate Spezifität und Sensitivität in Bezug auf die Beurteilung des Fugenschlusses. Eine Sensitivität von 73.7% (DF) bis 78.9% (MS) (KI 95% von 48.8-93.9%) und die Spezifität von 75% (KI 34.9-96.8%) ergab sich für die linke Sutura sphenofrontalis (p 0.0077 (MS) 0.0099 (DF)). Für die interparietalen Suturen lässt sich eine Sensitivität von 77.8% (DF) bis 83.3% (MS) (KI 52.4-93.7%) sowie eine geringe Spezifität von 42.9 (MS) bis 57.1% (DF) (KI 18.4-99.4%) feststellen. Eine hohe Sensitivität (76.9 -88.4%) und eine niedrige Spezifität (25 -50%) wurde für die Sutura interfrontalis (p 0.792 (MS); 0.1605 (DF)) und die Sutura sagittalis ermittelt (p 0.1695 (DF); 0.2005 (MS)). Es zeigte sich eine hohe Sensitivität (83.3 -100%) und eine niedrige Spezifität (50 -62.5%) für die Sutura lamboidea beidseits (p. 0.0406(MS); 0.2424 (DF)). Diese zuletzt genannten Suturen waren jedoch ohne statistische Signifikanz (Tabelle 6).

**Tabelle 6.: CT Sensitivität und Spezifität in Bezug auf die Beurteilbarkeit der Suturen und Synchondrosen für beide Untersucher unter Angabe der jeweiligen Konfidenzintervalle von über 95%. Observer 1 (DF) and Observer 2 (MS).**

<b>Sutur/ Synchondrose</b>	<b>O1 Sensitivität</b>	<b>Konfidenz- intervall &gt;95%</b>	<b>O1 Spezifität</b>	<b>Konfidenz- intervall &gt;95%</b>	<b>P- Wert</b>
S1	83.3%	62.6-95.3%	40%	12.2-73.8%	0.1605
S2	80.8%	60.6-93.4%	80%	28.4-99.5%	0.0034
S3	83.3%	62.6-95.2%	85.7%	42.1-99.6%	0.0004
S4	76.9%	56.4-91.0%	50%	15.7-84.3%	0.1695
S5	73.7%	48.8-90.9%	75%	34.9-96.8%	0.0099
S6	75%	53.3-90.2%	75%	19.4-99.4%	0.0646
S7	85.7%	63.7-97.0%	75%	34.9-96.8%	0.0018
S8	81.5%	61.9-93.7%	75%	19.4-99.4%	0.0138
S9	77.8%	52.4-93.6%	57.1%	18.4-90.1%	0.0049
S10	83.3%	35.8-99.6%	60%	14.6-94.7%	0.2424
S11	87.5%	47.3-99.7%	62.5%	24.5-91.5%	0.0406
S12	100%	83.8-100%	75%	19.4-99.4%	0.0030
BO	96.8%	83.3-99.9%	100%	60.7-100%	0
IS	93.7%	79.2-99.2%	83.3%	35.9-99.6%	0.0002
SE	85.2%	66.3-95.8%	80%	44.4-97.5%	0.0040
<b>Sutur/ Synchondrose</b>	<b>O2 Sensitivität</b>	<b>Konfidenz- intervall &gt;95%</b>	<b>O2 Spezifität</b>	<b>Konfidenz- intervall &gt;95%</b>	<b>P- Wert</b>
S1	87.5%	67.6-97.3%	30%	6.7-65.2%	0.0793
S2	84.6%	65.1-95.6%	100%	54.9-100%	0.0002
S3	83.3%	62.6-95.2%	85.7%	42.1-99.6%	0.0004
S4	88.5%	69.8-97.6%	25%	3.2-65.1%	0.2005
S5	78.9%	54.4-93.9%	75%	34.9-96.8%	0.0077
S6	75%	53.3-90.2%	75%	19.4-99.4%	0.0468
S7	85.7%	63.7-97.0%	75%	34.9-96.8%	0.0018
S8	81.5%	61.9-93.7%	75%	19.4-99.4%	0.0096
S9	83.3%	58.6-96.4%	42.9%	9.9-81.6%	0.0458
S10	100%	60.7-100%	60%	14.7-94.7%	0.0606
S11	100%	68.8-100%	50%	15.7-84.3%	0.0769
S12	94.4%	72.7-99.9%	75%	19.4-99.4%	0.0030
BO	96.8%	83.3-99.9%	100%	60.7-100%	0
IS	93.7%	79.2-99.2%	83.3%	35.9-99.6%	0.0002
SE	85.2%	66.3-95.8%	80%	44.4-97.5%	0.0002

**S1= Sutura interfrontalis, S2= Sutura coronalis sinister, S3= Sutura coronalis dexter, S4= Sutura sagittalis, S5= Sutura sphenofrontalis sinister, S6= Sutura squamosal sinister, S7= Sutura sphenofrontalis dexter, S8= Sutura squamosal dexter, S9= Sutura interparietalis, S10= Sutura lamboidea sinister, S11= Sutura lamboidea dexter, S12= Sutura palatinalis, BO= Synchondrosis sphenoccipitalis, IS= Synchondrosis intersphenoidalis, SE= Synchondrosis sphenothmoidalis**

#### **5.3.4. Zusammenfassende Beurteilung der Synchondrosen in der Computertomographie**

In 91.1% der untersuchten Schnitte (KI 84.2-95.6%) konnten die Synchondrosen richtig als offen identifiziert werden. Geschlossene Synchondrosen wurden in 86.4% der untersuchten Schnitte identifiziert (KI 65.1-97.1%) (Abbildung 26).

#### **5.3.5. Individuelle Beurteilung der Synchondrosen in der Computertomographie**

Die Synchondrosis basioccipitalis zeigte eine hohe Sensitivität von 96.8% (KI 83.3 - 99.9%) und eine hohe Spezifität von 100% (KI 60.7 -100%); ( $p= 0.0$ ). Die intersphenoidale Synchondrose zeigte eine hohe Sensitivität von 93.7% (KI 79.2 - 99.2%) und hohe Spezifität von 83.3% (KI 35.9 -99.6%); ( $p=0.0002$ ). Die vergleichsweise geringste Übereinstimmung der Synchondrosen hinsichtlich des Vergleichs der histologischen und computertomographischen Befunde zeigte sich bei der sphenoethmoidalen Synchondrose mit einer ebenfalls hohen Sensitivität von 85.2% (KI 66.3 -95.8%) und einer hohen Spezifität von 80% (KI 44.4 -97.5, ( $p=0.0002$ ) (Tabelle 6).

#### **5.3.6. Übereinstimmung der Untersucher in der Computertomographie**

Abhängig von den untersuchten Suturen reichte die Interobserverübereinstimmung im CT insgesamt von 82.1% (KI 66.5-92.5%) bis 100% (KI 92.8- 100%).

Bei der Sutura interfrontalis ( $\chi^2= 0.803$ ), coronalis sinister und dexter ( $\chi^2= 0.936$ ; 1), Sutura sphenofrontalis sinister und dexter ( $\chi^2= 0.929$ ; 0.927), Sutura squamosa ( $\chi^2= 0.934$ ), Sutura lamboidea sinister und dexter ( $\chi^2= 0.817$ ; 0.818) und der Sutura palatina mediana ( $\chi^2= 0.943$ ) zeigte sich eine vollkommene Übereinstimmung beider Untersucher. Eine mittelmäßige Übereinstimmung wies die Untersuchung der Sutura sagittalis auf ( $\chi^2= 0.53$ ) und für die Sutura interparietalis konnte eine beachtliche ( $\chi^2= 0.765$ ) Übereinstimmung erreicht werden.

Im Falle der Synchondrosen zeigt sich auch hier eine hohe bereinstimmung der Untersucher. Für alle Synchondrosen der Schädelbasis konnte eine vollkommene Übereinstimmung der beiden Untersucher erreicht werden. Synchondrosis basioccipitalis ( $\chi^2=1$ ), Synchondrosis intersphenoidalis ( $\chi^2=1$ ), Synchondrosis sphenothmoidalis ( $\chi^2=0,943$ ).

#### 5.4. Einfluss des Alters und der Gruppe auf die Fusion der Suturen und Synchondrosen

Aus der logistischen Regressionsanalyse des Einflusses des Alters auf die Fusion der Suturen und Synchondrosen ergab sich eine 1fache bis 1,4fache Chance für die jeweiligen Strukturen sich mit steigendem Alter zu schließen. Statistische signifikante Werte konnten hier für die Sutura sagittalis (S4), Sutura squamosal sinister und dexter (S6;8), Sutura sphenofrontalis dexter (S7), Sutura palatina mediana (S12), sowie für die Synchondrosen der Schädelbasis (BO, IS; SE) erreicht werden (Tabelle 7).

Tabelle 7.: Darstellung des Einflusses des Alters und der Schädelkonformation (Gruppe) der Suturen und Synchondrosen.

Suture/ Synchondrosis	Odds Ratio (Alter in Monaten)	Asymptotischer p-Wert	Odds Ratio (brachycephal)	Asymptotischer P-Wert
S1	1	0.0936	1.4	0.6535
S2	1	0.1024	2.7	0.1737
S3	1	0.1090	1.9	0.3714
S4	<b>1.3</b>	0.0002	1.5	0.6435
S5	1	0.1475	<b>5.1</b>	0.0253
S6	<b>1.2</b>	0.0004	3.1	0.1667
S7	<b>1</b>	0.0304	1.9	0.3483
S8	<b>1.1</b>	0.0005	2.1	0.3640
S9	1	0.3919	2.5	0.1698
S10	0.99	0.5131	3.8	0.1227
S11	1	0.9962	<b>8.7</b>	0.0079
S12	<b>1.4</b>	0.0154	0.8	0.7985
BO	<b>2.7</b>	0	-	-
IS	<b>1.6</b>	0	<b>1.1</b>	0.0034
SE	<b>1.8</b>	0	8.6	0.9640

S1= Sutura interfrontalis, S2= Sutura coronalis sinister, S3= Sutura coronalis dexter, S4= Sutura sagittalis, S5= Sutura sphenofrontalis sinister, S6= Sutura squamosal sinister, S7= Sutura

sphenofrontalis dexter, S8= Sutura squamosal dexter, S9= Sutura interparietalis, S10= Sutura lamboidea sinister, S11= Sutura lamboidea dexter, S12= Sutura palatinalis, BO= Synchondrosis sphenoccipitalis, IS= Synchondrosis intersphenoidalis, SE= Synchondrosis sphenoethmoidalis. Die Odds ratio (OR) gibt den Grad der Wahrscheinlichkeit für einen Fugenschluss an, in der Gruppe (Alter in Monaten) bezieht sich dies auf ein steigendes Alter in Monaten, in der Gruppe (brachycephal) bezieht sich dies auf die brachycephale Schädelkonformation. Rot markiert sind die statistisch signifikanten Werte.

Der Einfluss der Brachycephalie konnte lediglich für 3 Suturen mit statistischer Signifikanz bewiesen werden. Hiernach schließen sich die, im folgenden genannten, Suturen und Syncondrosen bei brachycephalen Rassen früher als bei mesocephalen. Die Odds ratio (OR) gibt den Grad der Wahrscheinlichkeit an. Hierunter zählen die Sutura sphenofrontalis sinister (OR= 5,1), Sutura lamboidea dexter (OR=8,7) und die Synchondrosis intersphenoidalis (OR= 1,1) (Tabelle 7).



## 6. Diskussion

### 6.1. Beurteilung der Suturenmorphologie

Die Wachstumsaktivität der Suturen unterliegt der Proliferation mesenchymaler Zellen und deren Differenzierung in Osteoblasten. Damit die Sutura nicht verknöchert, bedarf es einer kontinuierlichen Balance zwischen Proliferation und Differenzierung. Es konnte gezeigt werden, dass sich die Knochenkanten im Verlauf der Suturenalterung zueinander annähern und die Breite der Sutura kleiner wird. Des Weiteren wurde sowohl eine neue Orientierung des Kollagens im Bereich der Sutura als auch die Änderung der Menge und Form der Osteoblasten im Suturenspace beim Menschen gezeigt (REGELSBERGER et al. 2012). Im Rahmen der hier vorliegenden Studie konnten, wie auch bei Regelsberger et al., 2 Typen von Syndesmosen identifiziert werden: zum Einen Typ A mit lockerem Bindegewebe, welches sich parallel zum Suturenspace orientiert. Dieser Typ enthält eine hohe Anzahl an Osteoblasten im Randbereich der Sutura. Typ B-Syndesmosen zeigten straffes, zur Sutura im 90°-Winkel gelegenes Bindegewebe mit nur wenig Osteoblasten innerhalb der Sutura. Bei älteren Patienten im Alter von 3 bis 10 Jahren konnten ebenfalls im Bereich der coronalen, parietosphenoidalen und lambdoiden Suturen Typ B-Syndesmosen gefunden werden. Dies legt die Hypothese nahe, dass es sich um eine inaktive, also funktionell geschlossene, Wachstumsfuge handelt. In der Humanmedizin wurde bereits gezeigt, dass die Sutura interfrontalis (metopische Sutura) ein großes Intervall möglicher Fugenschluss-Zeitpunkte aufweist. Dieses reicht vom 20. bis zum 50. Lebensjahr. Bei ca. 10% der untersuchten Patienten bleibt die Sutura sogar zeitlebens geöffnet (KOKICH 1986).

Eine andere Erklärung für die Ausbildung einer Typ B-Syndesmose ist der Anstoß normaler Ossifikationsvorgänge im Rahmen des Fugenschlusses, welche möglicherweise im Falle von Craniosynostosen zu früh auftreten und zu einem prämaturen Schluss der cranialen Wachstumszentren führen (REGELSBERGER et al. 2012). Dies kann auch bei der Entwicklung und Determination der Schädelmorphologie des Hundes angenommen werden, doch sind weitere Studien bezüglich der Wachstumsaktivität der Suturen nötig, um diese These näher zu explorieren. Untersuchungen in Bezug auf Kollagen Typ 1, TGF-beta, FGFR und SPP1, welche in der Matrix der sich schließenden Sutura aufreguliert werden und

CBFA1, FGF2 sowie IGF, die im Bereich der knöchernen Kanten sich schließender Suturen aufreguliert werden, wurden bereits bei Menschen, Kaninchen und Ratten durchgeführt. (MOONEY 2007, COUSSENS 2008, MOENNING 2009, SHEN 2009). Diesbezüglich gibt es in der Literatur keine Studien beim Hund, diese könnten jedoch Hinweise auf die Aktivität innerhalb der jeweiligen Syndesmose liefern.

## **6.2. Beurteilung der Sensitivität und Spezifität von Suturen im MRT und CT**

Bei der Untersuchung von lebenden Hunden mittels diagnostischer bildgebender Verfahren (CT und MRT) wurde versucht mehr Daten hinsichtlich des Fugenschlusses der Suturen im Bereich der Calvarien und der Synchrondrosen der Schädelbasis in einer größeren Kohorte von Hunden zu sammeln (SCHMIDT 2013). Auf diese Weise können die Wachstumsfugen wiederholt im Rahmen von Längsschnittstudien analysiert werden. In dieser Studie wurde daher vor allem Wert auf die Sensitivität und Spezifität der beiden Untersuchungsverfahren (CT und MRT) im Vergleich zur histologischen Kontrolle gelegt. Da es sich bei den Typ B-Syndesmosen vorraussichtlich entweder um funktionell inaktive Fugen oder um den Anhaltspunkt einer fortschreitenden Ossifikation handelt, wurden diese mit den in CT und MRT als geschlossen beurteilten Fugen verglichen. In der Computertomographie ergab sich so eine hohe Sensitivität, aber eine niedrige Spezifität für die Beurteilung der Suturen. Eine hohe Sensitivität und Spezifität zeigte sich in der computertomographischen Beurteilung des Synchrondrosenstatus. Das MRT zeigte eine mittelmäßige Sensitivität und eine geringe Spezifität für die Beurteilung der Suturen. Für die Beurteilung der Synchrondrosen zeigte sich im MRT eine hohe Sensitivität und eine mittelmäßige bis hohe Spezifität.

Die Typ B-Syndesmosen als Indikator für einen Wachstumsfugenschluss waren sowohl im MRT als auch im CT schwerer zu identifizieren als die Typ A-Syndesmosen. Dies kann zwei Ursachen haben: Zum einen kann die geringe Größe der zu untersuchenden Strukturen ein Grund sein, da die Suturen z.T. kleiner als 1mm sind. Obwohl MRT und CT eine Auflösung von 0,7mm in dieser Studie hatten, ist die Suture mit <1mm schwer zu identifizieren. In der Humanmedizin gibt es Studien, in der Suturen hochauflösend (<1mm, Flat Panel CT) analysiert wurden und so eine gute Visualisierung der Schädeluturen ermöglichten (HARHT 2009, FURUYA 1984). Eine

weitere Studie zeigte, dass die Suturen in Schichtdicken von 1.5mm zufriedenstellender dargestellt werden konnten als in Schichtdicken von 5mm oder 10mm (FURUYA 1984). Es ist wahrscheinlich, dass die Beurteilung der Suturen zuverlässiger mit hochauflösenderen Verfahren wie z.B. dem Mikro-CT möglich wäre. Dies ist jedoch im klinischen Alltag am lebenden Tier nicht umsetzbar, da sich die Anschaffung eines solchen Gerätes innerhalb einer Klinik nicht rentiert. Zum anderen kann ein zweiter Grund für die schlechtere Identifizierung der Typ B- im Vergleich zu Typ A-Syndesmosen sein, dass beide Suturentypen kollagenes Bindegewebe enthalten, welches sich je nach Typ anders orientiert, aber dennoch im Suturspalt liegt. Anhand der hier genutzten bildgebenden Verfahren lässt sich somit nur der Suturspalt darstellen, nicht aber die Orientierung des Bindegewebes darin. Eine Unterscheidung zwischen Typ A und Typ B ist somit nicht möglich. Eine Unterscheidungshilfe liefert möglicherweise nur die Breite der Sutura. Unter der Annahme, dass es bei der Typ B-Syndesmose bereits zu einer Annäherung der Knochenkanten und somit zu einer Verengung des Suturspaltes kommt, kann dies ab einem bestimmten Punkt zur Überschreitung der Auflösungsgrenze führen, sodass Typ B-Syndesmose ggf. als geschlossen bewertet werden. Diese These bedarf jedoch weiterer morphometrischer Untersuchungen hinsichtlich des Suturspaltes in Bezug auf das Alter und den Typ der Syndesmose.

In den Untersuchungen wurde gezeigt, dass insbesondere die Sutura sphenofrontalis und die Sutura squamosa nur schwer als offen oder geschlossen identifiziert werden konnten. Diese Suturen befinden sich jeweils zwischen zwei sich überlappenden Knochenenden und werden somit als Sutura squamosa bezeichnet (WILLIAM 2009). Sie sind jeweils lateral an der Schädelkalotte lokalisiert. Sowohl die überlappende Struktur als auch die laterale Lokalisation der Suturen an der Schädelkalotte erschweren die Beurteilung dieser Suturen mittels der hier genutzten bildgebenden Verfahren. Die rechte Sutura sphenofrontalis zeigte eine hohe Sensitivität und Spezifität im CT, wohingegen für die linke Sutura sphenofrontalis nur eine geringe Sensitivität und Spezifität gezeigt werden konnte. Hierfür lassen sich zum derzeitigen Zeitpunkt keine Erklärungen finden.

### **6.3. Beurteilung der Sensitivität und Spezifität von Synchondrosen im MRT und CT**

Die Synchondrosen waren sowohl im CT als auch im MRT gut zu beurteilen und zeigten eine hohe Sensitivität und Spezifität in beiden Untersuchungsmethoden. Dies liegt wahrscheinlich an der größeren Breite der Synchondrosen im Vergleich zur Sutura und dem unterschiedlichen Signalverhalten von Knochen- und Knorpelgewebe. Die histologischen Befunde der untersuchten Schädelbasis-Synchondrosen stimmten zu großen Teilen mit den Befunden aus der Bildgebung überein, hauptsächlich mit den besten Resultaten bei der Beurteilung der Synchondrosis basioccipitalis. Die Synchondrosis sphenothmoidalis zeigte im Vergleich zur Synchondrosis basioccipitalis und intersphenoidalis eine geringere Beurteilbarkeit in MRT und CT. Die Synchondrosis sphenothmoidalis bildet die Verbindung des Os ethmoidale und Os praesphenoidale und liegt somit nah am Cavum nasi, was möglicherweise zu einer schwierigeren Visualisierung im Vergleich zu den anderen beiden Synchondrosen der Schädelbasis führt.

### **6.4. Bedeutung nicht detektierbarer Suturen in der Histologie**

Bei der histologischen Auswertung der Sutura lambdoidea konnte in vielen Fällen kein Suturspalt in den histologischen Schnitten identifiziert werden. Eine Möglichkeit ist eine vollständige Ossifikation der Suturen. Eine andere Möglichkeit besteht darin, dass die Suturen im Rahmen der Probenentnahme nicht im Schnitt enthalten waren und somit für die weitere Beurteilung verloren gegangen sind. In den meisten Fällen, in denen die Sutura lambdoidea nicht identifiziert werden konnte, wurde sie im korrespondierenden CT oder MRT Bild als "offen" beurteilt, was auf eine mangelhafte Probenentnahme hindeutet. Die Sutura lambdoidea konnte im Rahmen der Probengewinnung jeweils nur schlecht visualisiert werden, weswegen die Entnahme dieser Suturen anhand von Orientierungspunkten blind geschah. Die Orientierung erfolgte anhand der Sutura interparietalis sowie anhand der rechts und links lateral davon gelegenen Crista nuchae. Entlang der Crista nuchae erfolgte im letzten Schritt das Heraussägen der Sutura lambdoidea. Ein Verfehlen der Sutura kann somit nicht ausgeschlossen werden. In 18 bis 25% (linke und rechte Sutura lambdoidea) wurde die Sutura als "geschlossen" beurteilt. Dies wiederum legt die Vermutung nahe,

dass es sich auch um bereits ossifizierte Suturen (Synostosen) innerhalb der histologischen Probe handelt. Sowohl im CT als auch im MRT konnten für die Sutura lamboidea keine statistisch signifikanten Ergebnisse erzielt werden, was vermutlich mit den zu geringen Vergleichsmöglichkeiten in der Histologie zusammenhängt. Zusammenfassend zeigt sich jedoch, dass die Sutura lamboidea in allen hier verwendeten Untersuchungsmethoden (CT, MRT und Histologie) nur schwer zu identifizieren ist. Auch die makroskopische Visualisierung am Schädelpräparat ist nicht immer möglich, sodass vermutlich auch die erschwerte Visualisierung im Rahmen der Schnittbilddiagnostik (MRT und CT) durch die Lokalisation zwischen Os occipital und Os parietale und die Überlagerung der Suture durch die Christa nuchae bedingt ist.

### **6.5. Erkenntnisse des Interobserververgleichs**

Obwohl eine beachtliche bis vollkommene Übereinstimmung im Observervergleich gezeigt werden konnte, wurden statistisch signifikante Ergebnisse im MRT für die Sutura interfrontalis, Sutura coronalis beidseits, Sutura interparietalis und Sutura palatinalis nur für einen Observer (MS) erreicht. Dies ist wahrscheinlich durch ein höheres Maß an Erfahrung hinsichtlich der Beurteilung magnetresonanztomographischer Aufnahmen zu begründen. Somit scheint es zur zuverlässigeren Beurteilung der Suturen im MRT ein höheres Maß an Erfahrung zu benötigen als im CT.

### **6.6. Bedeutung des Alters hinsichtlich des Fugenschlusses**

Aus der logistischen Regressionsanalyse des Einflusses des Alters auf die Fusion der Suturen und Synchondrosen ergab sich eine 1fache bis 1,4fache Chance für die jeweiligen Suturen und Synchondrosen sich mit steigendem Alter zu schließen. Statistisch signifikante Werte konnten hier für die Sutura sagittalis, Sutura squamosa beidseits, Sutura sphenofrontalis dexter, Sutura palatinalis, sowie für die Synchondrosen der Schädelbasis erreicht werden. Es ist wahrscheinlich, dass dies mit zu geringen Fallzahlen für die jeweiligen Suturen und der Altersverteilung der Patienten zusammenhängt. Das zum Studienbeginn festgelegte Alter beinhaltete

Hunde bis zu einem Jahr, exemplarisch wurden Hunde mit 3 und 10 Jahren eingeschlossen. Bei der Datenerhebung konnten vor allem sehr junge Hunde unter 1 Woche gewonnen werden (n=16). Dies führt zu einer besonders hohen Zahl offener Suturen und zu einer vergleichsweise niedrigeren Zahl geschlossener Fugen für die Altersauswertung. Zusätzlich konnten, vor allem im Fall der Sutura lamboidea, nicht alle Suturen in der Histologie nachgewiesen werden, sodass diese im Rahmen der Berechnungen zum Altersfugenschluss keine Berücksichtigung finden konnten. Eine Determination des Zeitpunktes für den Schluss der einzelnen Suturen und Synchondrosen konnte, aufgrund der Altersverteilung der Patienten und den damit verbundenen geringen Fallzahlen geschlossener Wachstumsfugen, in dieser Studie nicht erreicht werden. Im Fall der Synchondrosen liegt bereits eine Studie vor, die in der Magnetresonanztomographie eine Fusion der Synchondrosis sphenoooccipitalis bei mesocephalen Hunden mit ca. 13,5 Monaten, bei brachycephalen Hunden mit ca. 9,5 Monaten und beim Cavalier King Charles Spaniel bereits mit 5 Monaten zeigt (SCHMIDT 2013). Die Ergebnisse dieser Studie unterstützen diese Aussage dahingehend, dass für das MRT eine hohe Sensitivität und Spezifität für die Beurteilung der Synchondrosen festgestellt werden konnte. Weitere Studien mit einer breiteren Altersverteilung und mehr Patienten sind daher vor allem zur Determination des Fugenschlusses der Suturen am kaninen Schädel anzuraten.

### **6.7. Bedeutung der Brachycephalie hinsichtlich des Fugenschlusses**

Der Einfluss der Brachycephalie konnte lediglich für 3 Wachstumsfugen mit statistischer Signifikanz bewiesen werden. Bei Hunden gleichen Alters schließen die Sutura sphenofrontalis sinister, Sutura lamboidea dexter sowie die Synchondrosis intersphenoidalis mit einer höheren Wahrscheinlichkeit früher bei brachycephalen Hunderassen. Da die Untersuchungen signifikante Ergebnisse hinsichtlich der rechten Lambdasutur und der linken Sutura sphenofrontalis ergaben, besteht die Annahme, dass die jeweils contralateralen Suturen ebenfalls eine frühere Fusion bei brachycephalen Rassen aufweisen. Die fehlende statistische Signifikanz dieser Ergebnisse kann ebenfalls durch zu geringe Fallzahlen und das Alter der Tiere erklärt werden. Ungeklärt bleibt, ob die verbleibenden Suturen (Sutura interfrontalis, Sutura coronalis, Sutura sagittalis, Sutura squamosa und Sutura palatina mediana) im

Rahmen einer brachycephalen Schädelkonformation einen früheren Fugenschluss aufweisen. Aus der Humanmedizin ist bereits bekannt, dass vor allem die vorzeitige Fusion der Sutura coronalis zu einer brachycephalen Schädelkonformation führt (MÜLLER 1997). Somit ist es wahrscheinlich, dass auch am caninen Hundeschädel ein Zusammenhang besteht. Dies muss jedoch im Rahmen weiterer Studien mit größeren Fallzahlen und einer breiteren Altersverteilung untersucht werden. Interessanterweise zeigte die Sutura lamboidea eine frühere Fusion bei brachycephalen Rassen. Die praemature Fusion der Lambdasutur in den ersten 24 Lebensmonaten beim Menschen ist mit der Ausbildung der Chiari Malformation Typ 1 assoziiert (CINALLI 1995, MÜLLER 1997). In der Veterinärmedizin konnte bislang für brachycephale Hunde vor allem eine Größenzunahme des Ventrikelsystems im Sinne einer Ventriculomegalie gezeigt werden (SCHMIDT 2015), beim Cavalier King Charles Spaniel ist des Weiteren auch die Chiari ähnliche Malformation bekannt (SCHMIDT 2013). Eine Assoziation dieser Erkrankungen mit dem praematuren Schluss von Suturen ist bei Hunden bislang nicht untersucht. Die Ergebnisse dieser Studie geben Grund zur Annahme, dass die praemature Fusion von Suturen in der weiteren Entwicklung zur Ausbildung einer Ventrikulomegalie und ggf. auch zur Ausbildung der Chiari ähnlichen Malformation führt. Diese Annahmen müssen ebenfalls im Rahmen weiterer Studien, mit besonderem Augenmerk auf den Cavalier King Charles Spaniel und die Lambdasutur, überprüft werden.

## 7. Zusammenfassung

Konventionelle Bildgebungsverfahren (MRT und CT) sind nützlich zur Bestimmung des "offenen" oder "geschlossenen" Status` der Synchondrosen innerhalb der Schädelbasis. Der Schluss der Suturen ist in beiden Verfahren schwieriger zu erfassen, die Beurteilbarkeit hängt insbesondere beim MRT vom Erfahrungsmaß des Untersuchers ab. Die Histologie bietet eine eindeutige Aussage über den Status der Sutura und sollte somit als Goldstandard angesehen werden. Bezüglich der strukturellen Entwicklungen der Suturen bestätigen unsere Daten die Ergebnisse anderer Studien aus der Humanmedizin, in denen normale Vorgänge des Fugenschlusses im Falle von Craniosynostosen und somit ggf. auch im Falle brachycephaler Rassen, zu früh erfolgen. Des Weiteren bestehen Hinweise auf einen

Zusammenhang zwischen der praematuren Fusion von Suturen bei brachycephalen Hunderassen und der Ausbildung einer Ventriculomegalie als auch einer Chiari-ähnlichen Malformation.

## **8. Summary**

Conventional imaging techniques are very useful to assess the open or closed status of synchondroses within the cranial base. Sutural closure is difficult to diagnose in MRI and CT. Assessment is dependent on observer experience. Histology has to be seen as the gold standard for suture assessment. Concerning structural suture development our data are confirming studies from human medicine indicating normal sutural closing patterns which occur simply to early in craniosynostosis and possibly in brachycephalic breeds. Furthermore there is evidence for an association between ventriculomegaly and Chiari-like malformation in brachycephalic breeds and premature fusion of different sutures.



## 9. Quellenangaben

**Abad V**, Meyers JL, Weise M, Gafni RI, Barnes KM, Nilsson O, et al. (2002). The role of the resting zone in growth plate chondrogenesis. *Endocrinology* 143: 1851–7.

**Al-Otibi M**, Jea A, Kulkarni AV (2007). Detection of important venous collaterals by computed tomography venogram in multisutural synostosis. Case report and review of the literature. *Journal of Neurosurgery* 107(6): 508–510.

**Anderson PJ**, Netherway DJ, David DJ, Self P (2006). Scanning electron microscope and micro-CT evaluation of cranial sutures in health and disease. *Journal of Craniofacial Surgery* 17(5): 909–919.

**Aron DN**, Crowe DT (1985). Upper airway-obstruction—general-principles and selected conditions in the dog and cat. *Veterinary Clinics of North America-Small Animal Practice* 15: 891–917.

**Asher L**, Diesel G, Summers JF, McGreevy PD, Collins LM (2009). Inherited defects in pedigree dogs. Part 1: Disorders related to breed standards. *The Veterinary Journal* 182: 402–411.

**Bandyopadhyay A**, Yadav PS, Prashar P (2013). BMP signaling in development and diseases: a pharmacological perspective. *Biochemical Pharmacology* 85: 857–864.

**Bannasch D**, Young A, Myers J, Truvé K, Dickinson P, Gregg J, Davis R, Bongcam-Rudloff E, Webster MT, Lindblad-Toh K und Pedersen N (2010). Localization of canine brachycephaly using an across breed mapping approach. *Plos one* 5(3): 1- 9.

**Barkovich AJ**, Raybaud C (2005). *Pediatric neuroimaging*. 4th ed. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia.

**Behr B**, Panetta NJ, Longaker MT, Quarto N (2010). Different endogenous threshold levels of fibroblast growth factor-ligands determine the healing potential of frontal and parietal bones. *Bone* 47: 281–294.

**Bednarek J**, Bloch-Boguslawska E, Engelhardt P, Wolska, E. & Sliwka, K (2005). The degree of closure of the cranial sutures as a quick method for adult age evaluation in autopsy. *Archiwum Medycyny Sadowej i Kryminologii* 55(3): 185-9.

**Bradley JP**, Levine JP, McCarthy JG, et al. (1997). Studies in cranial suture biology: regional dura mater determines in vitro cranial suture fusion. *Plastic and Reconstructive Surgery* 100: 1091–1099 discussion. 1100–1102.

**Brehm H**, Loeffler K und Komeyli H (1985). Schädelformen beim Hund. *Anatomia, Histologia, Embryologia* 14: 324-331.

**Bustamante CD**, Ciruna B und Ostrander EA (2012). Variation of BMP3 contributes to dog breed skull diversity. *Plos Genetics* 8(8): 1-11.

**Captier G**, Leboucq N, Bigorre M, Canovas F, Bonnel F, Bonnafe A, et al. (2003). Plagiocephaly: morphometry of skull base asymmetry. *Surgical and Radiologic Anatomy* 25: 226–33.

**Cinalli G**, Renier D, Sebag G, Sainte-Rose C, Arnaud E, PierreKahn A (1995). Chronic tonsillar herniation in Crouzon and Apert's syndromes: the role of premature synostosis of the lambdoid suture. *Journal of Neurosurgery* 83: 575–582.

**Cinalli G**, Chumas P, Arnaud E, Sainte-Rose C, Renier D (1998). Occipital remodeling and suboccipital decompression in severe craniosynostosis associated with tonsillar herniation. *Neurosurgery* 42: 66–73.

**Cinalli G**, Spennato P, Sainte-Rose C, Arnaud E, Aliberti F, Brunelle F, et al (2005). Chiari malformation in craniosynostosis. *Child's Nervous System* 21: 889–901.

**Cohen MM**, Kreiborg S (1990). The central nervous system in the Apert syndrome. *American Journal of Medical Genetics* 35: 36–45.

**Cohen MM**, Kreiborg S, Lammer EJ, Cordero JF, Mastroiacovo P, Erickson JD, Roeper P, Martinez-Frias ML (1992). Birth prevalence study of the Apert syndrome. *American Journal of Medical Genetics* 42: 655–659

**Cohen MM**, Kreiborg S (1993) An updated pediatric perspective on the Apert syndrome. *American Journal of Diseases of Children* 147: 989–993.

**Cohen MM**, Mac Lean RE (2000). *Craniosynostosis: Diagnosis, Evaluation, and Management*. 2nd ed. Oxford University Press.

**Cole DE**, Hanley DA (1991). Osteocalcin. In: Hall BK, editor. *Bone*, vol 3: Bone matrix and bone specific products. CRC Press. Boca Raton, 239 –294.

**Collman H**, Sörensen N, Krauss J, Mühling J (1988). Hydrocephalus in craniosynostosis. *Childs Nervous System* 4(5): 279-85.

**Colosimo C**, Tartaro A, Cama A, Tortori-Donati P (2005). The craniosynostoses. In: Tortori-Donati P, Rossi A, Biancheri R (editor) *Pediatric neuroradiology*. Springer, Berlin, 1289–1315.

**Corega C**, Vaida L, Baciut M, et al (2010). Three-dimensional cranial suture morphology analysis. *Romanian Journal of Morphology and Embryology* 51:123–127.

**Couly GF**, Coltey PM und Le Douarin NM (1993). The triple origin of skull in higher vertebrates: a study in quail-chick chimeras. *Development* 117: 409-429.

**Coussens AK**, Hughes IP, Morris CP, Powell BC, Anderson PJ (2009). In vitro differentiation of human calvarial suture derived cells with and without dexamethasone does not induce in vivo-like expression. *Journal of Cellular Physiology* 218: 183-191.

**Creuzet S**, Schuler B, Couly G, Le Douarin NM (2004). Reciprocal relationships between Fgf8 and neural crest cells in facial and forebrain development. *Proceedings of National Academy of Sciences of the United States of America* 101:4843–4847.

**Da Costa AC**, Walters I, Savarirayan R, Anderson VA, Wrennall JA, Meara JG (2006). Intellectual outcomes in children and adolescent with syndromic and nonsyndromic craniosynostosis. *Plastic and Reconstructive Surgery* 118:182–183.

**Davis C**, Windh P, Lauritzen CG (2009). Spring-assisted cranioplasty alters the growth vectors of adjacent cranial sutures. *Plastic and Reconstructive Surgery* 123: 470-474.

**Drake AG** (2004). Evolution and development of the skull of canids: an investigation of morphological integration and heterochrony. PhD Dissertation, University of Massachusetts, Amherst.

**Drake AG** und Klingenberg CP (2010). Large-scale diversification of skull shape in domestic dogs: disparity and modularity. *The American Naturalist* 175(3): 289-301.

**Drake AG** (2011). Dispelling dog dogma: an investigation of heterochrony in dogs using 3D geometric morphometric analysis of skull shape. *Evolution and Development* 13: 204-213.

**Driver CJ**, Chandler K, Walmsley G, Shibab N, Volk HA (2013). The association between Chiari-like malformation, ventriculomegaly and seizures in cavalier King Charles spaniels. *Veterinary Journal* 195: 235–237.

**De Leon GA**, de Leon G, Grover WD, Zaeri N, Alburger PD (1987). Agenesis of the corpus callosum and limbic malformation in Apert syndrome (type I acrocephalosyndactyly). *Archives of Neurology* 44: 979–982.

**Ducy P** (2000). *Cbfa1*: A molecular switch in osteoblast biology. *Developmental Dynamics* 219: 461–471.

**Dudley AT**, Lyons KM, Robertson EJ (1995). A requirement for bone morphogenetic protein-7 during development of the mammalian kidney and eye. *Genes and Development* 9: 2795–807.

**Elia M**, Musumeci SA, Ferri R, Greco D, Romano C, Del Gracco S, Stefanini MC (1996). Saethre-Chotzen syndrome: a clinical, EEG and neuroradiological study. *Child's Nervous System* 12: 699–704.

**Ellenberger W** und Baum H (1891). Systematische und topographische Anatomie des Hundes. Berlin: Verlag Paul Parey, 73-80.

**Eswarakumar VP**, Monsonego-Ornan E, Pines M, Antonopoulou I, Morriss-Kay GM, Lonai P (2002). The *Ilc* alternative of *Fgfr2* is a positive regulator of bone formation. *Development* 129: 3783–93.

**Eswarakumar VP**, Horowitz MC, Locklin R, Morriss-Kay GM, Lonai P (2004). A gain-of-function mutation of *Fgfr2c* demonstrates the roles of this receptor variant in osteogenesis. *Proceedings of the National Academy of the United States of America* 101: 12555–60.

**Evans HE** (1993). Miller's anatomy of the dog. 3rd ed. Philadelphia: Saunders, 1: 84–97 und 103.

**Fearon JA**, Rhodes J (2009). Pfeiffer syndrome: a treatment evaluation. *Plastic and Reconstructive Surgery* 123: 1560–1569.

**Fjortoft MI**, Sevely A, Boetto S, Kessler S, Sarramon F, Rolland M (2007). Prenatal diagnosis of craniosynostosis: value of MR imaging. *Neuroradiology* 49: 515–521.

**Francis PM**, Beals S, Rekate HL, Pittman HW, Manwaring K, Reiff J (1992). Chronic tonsillar herniation and Crouzon's syndrome. *Pediatric Neurosurgery* 18: 202–206.

**Fondon JW** und Garner HR (2004). Molecular origins of rapid and continuous morphological evolution. *Proceedings of the National Academy of the United States of America* 101(52): 18058-18063.

**Furuya Y**, Edwards MS, Alpers CE, Tress BM, Ousterhout DK, Norman D (1984). Computerized tomography of cranial sutures Part 1: Comparison of suture anatomy in children and adults. *Journal of Neurosurgery*. 61(1): 53-8.

**Gabrielli O**, Moroni E, Barbato M, Pierleoni C, Felici L (1989). Acrocefalosindatillia tipo III (S. Saethre–Chotzen). Descrizione di due casi. *Pathologia* 81: 295–300.

**Gagan JR**, Tholpady SS, Olge RC (2007). Cellular dynamics and tissue interaction of the dura mater during head development. *Birth Defects Research (Part C)* 81:297-304.

**Gakunga PT**, Kuboki Y, Opperman LA (2000). Hyaluronan is essential for the expansion of the cranial base growth plates. *Journal of Craniofacial Genetics and Developmental Biology* 20: 53–63.

**Ghouzzi V**, Lajeunie E, Le Merrer M, Cormier-Daire V, Renier D, Munnich A, Bonaventure J (1999). Mutations within or upstream of the basic helix-loop-helix domain of the TWIST gene are specific to Saethre–Chotzen syndrome. *European Journal of Human Genetics* 7: 27–33.

**Greenwald JA**, Mehrara BJ, Spector JA, et al. (2000). Regional differentiation of cranial suture-associated dura mater in vivo and in vitro: implications for suture fusion and patency. *Journal of Bone and Mineral Research* 15: 2413–2430.

**Goodwin D**, Bradshaw JWS und Wickens SM (1997). Paedomorphosis affects agonistic visual signals of domestic dogs. *Animal Behavior* 53: 297-304.

**Gupta PC**, Foster J, Crowe S, Papay FA, Luciano M, Traboulsi EI (2003). Ophthalmologic findings in patients with nonsyndromic plagiocephaly. *Journal of Craniofacial Surgery* 14: 529-532.

**Harvey CE** (1989). Inherited and Congenital Airway Conditions. *Journal of Small Animal Practice* 30: 184–187.

**Harth S** (2009). Estimating age by assessing the ossification degree of cranial sutures with the aid of Flat- Panel- CT. *Legal Medicine, Tokyo* 11(1): 186-9.

**Haworth KE**, Islam I, Breen M, Putt W, Makrinou E, Binns M, Hopkinson D und Edwards Y (2001). Canine TCOF1; cloning, chromosome assignment and genetic analysis in dogs with different head types. *Mammalian Genome* 12: 622-629.

**Hayward R** (2005). Venous hypertension and craniosynostosis. *Child's Nervous System* 21: 880–888.

**Huber W** (1974). Biometric analysis of brachycephaly in domestic dogs. *Annals of Biology* 13: 3–4.

**Hunenko O**, Karmacharya J, Ong G, Kirschner RE (2001). Toward an understanding of nonsyndromic craniosynostosis: altered patterns of TGF-beta receptor and FGF receptor expression induced by intrauterine head constraint. *Annals of Plastic Surgery* 46: 546-554.

**Ishii-Suzuki M**, Suda N, Yamazaki K, Kuroda T, Senior PV, Beck F, et al. (1999). Differential responses to parathyroid hormone-related protein (PTHrP) deficiency in the various craniofacial cartilages. *Anatomical Record* 255: 452–7.

**Ishii M**, Merrill AE, Chan YS, Gitelman I, Rice DP, Sucov HM, Maxson RE Jr (2003). Msx2 and Twist cooperatively control the development of the neural crest-derived skeletogenic mesenchyme of the murine skull vault. *Development* 130: 6131–6142.

**Jabs EW**, Muller U, Li X, Ma L, Luo W, Haworth IS, Klisak I, Sparkes R, Warman ML, Mulliken JB, et al (1993). A mutation in the homeodomain of the human MSX2 gene in a family affected with autosomal dominant craniosynostosis. *Cell* 75: 443–450.

**Jeffery N** (2002). A high-resolution MRI study of linear growth of the human fetal skull base. *Neuroradiology* 44: 358–66.

**Jeffery N**, Spoor F (2004). Ossification and midline shape changes of the human fetal cranial base. *American Journal of Physical Anthropology* 123: 78–90.

**Jensen BL**, Kreiborg S (1993). Development of the skull in infants with cleidocranial dysplasia. *Journal of Craniofacial Genetics and Developmental Biology* 13: 89–97.

**Jensen BL**, Kreiborg S (1993). Craniofacial abnormalities in 52 schoolage and adult patients with cleidocranial dysplasia. *Journal of Craniofacial Genetics and Developmental Biology* 13: 98–108.

**Jensen BL** (1994). Cleidocranial dysplasia: craniofacial morphology in adult patients. *Journal of Craniofacial Genetics and Developmental Biology* 14: 163–76.

**Jiang X**, Rowitch D, Soriano P, et al. (2000). Fate of the mammalian cardiac neural crest. *Development* 127: 1607–1616.

**Jiang X**, Iseki S, Maxson RE, Sucov HM, Morriss-Kay GM (2002). Tissue origins and interactions in the mammalian skull vault. *Developmental Biology* 241: 106–116.

**Johnson D**, Iseki S, Wilkie AOM, Morriss-Kay GM (2000). Expression patterns of Twist and Fgfr1, -2 and -3 in the developing mouse coronal suture suggest a key role for Twist in suture initiation and biogenesis. *Mechanisms of Development* 91: 341–345.

**Jones KL** (2006). *Smith's recognizable pattern of human malformation*, 6th ed. Elsevier Saunders, Philadelphia, PA.

**Julien LM**, Tyler WS, Hage TJ und Gregory PW (1957). Premature closure of the spheno-occipital synchondrosis in the horned Hereford dwarf of the „short-headed“ variety. *American Journal of Anatomy* 100: 269–287.

**Kamiya N**, Ye L, Kobayashi T, Mochida Y, Yamauchi M, Kronenberg HM, Feng JQ, Mishina Y (2008). BMP signaling negatively regulates bone mass through sclerostin by inhibiting the canonical Wnt pathway. *Development* 135: 3801–3811.

**Kim HJ**, Rice DP, Kettunen PJ, Thesleff I (1998). FGF-, BMP-, and Shh-mediated signalling pathways in the regulation of cranial suture morphogenesis and calvarial bone development. *Development* 125: 1241–1251.

**Koch DA**, Arnold S, Hubler M, Montavon P (2003). Brachycephalic syndrome in dogs. *Compendium on Continuing Education for the Practising Veterinarian* 25(1):48–55.

**Kokich VG**, Cohen MMJ (1986). Biology of sutures. In: *Craniosynostosis: Diagnosis, Evaluation, and Management*. Raven, New York, 81-103.

**Komatsu Y**, Yu PB, Kamiya N, Pan H, Fukuda T, Scott GJ, Ray MK, Yamamura K, Mishina Y (2013). Augmentation of Smad-dependent BMP signaling in neural crest cells causes craniosynostosis in mice. *Journal of Bone and Mineral Research* 28: 1422–1433.

**König HE** und Liebich HG (2005). *Anatomie der Haussäugetiere. Lehrbuch und Farbatlas für Studium und Praxis*. 3. Auflage, Stuttgart: Schattauer, 2: 47, 60–61 und 59–62.

**Kreiborg S** (1981). Craniofacial growth in plagiocephaly and Crouzon syndrome. *Scandinavian Journal of Plastic and Reconstructive Surgery* 15: 187–97.

**Kreiborg S**, Cohen MM Jr (1998). Is craniofacial morphology in Apert and Crouzon syndromes the same? *Acta Odontologica Scandinavica* 56: 339–41.

**Kreiborg S**, Marsh JL, Cohen MM Jr, Liversage M, Pedersen H, Skovby F, et al. (1993). Comparative three-dimensional analysis of CT-scans of the calvaria and cranial base in Apert and Crouzon syndromes. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery* 21: 181–8.

**Kreiborg S**, Jensen BL, Larsen P, Schleidt DT, Darvann T (1999). Anomalies of craniofacial skeleton and teeth in cleidocranial dysplasia. *Journal of Craniofacial Genetics and Developmental Biology* 19: 75–9.

**Lajeunie E**, Cameron R, El Ghouzi V, de Parseval N, Journeau P, Gonzales M, Delezoide AL, Bonaventure J, Le Merrer M, Renier D (1999). Clinical variability in patients with Apert's syndrome. *Journal of Neurosurgery* 90: 443–447.



**Lauruschkus G** (1942). Über Riechfeldgröße und Riechfeldkoeffizient bei einigen Hunderassen und der Katze. Arch. F. Tierheilk. 77: 473-497.

**Le Douarin NM**, Ziller C, Couly GF (1993). Patterning of neural crest derivatives in the avian embryo: in vivo and in vitro studies. Developmental Biology 159: 24–49.

**Lee MS**, Lowe GN, Strong DD, Wergedal JE, Glackin CA (1999). TWIST, a basic helix-loop-helix transcription factor, can regulate the human osteogenic lineage. Journal of Cellular Biochemistry 75 (4): 566–77.

**Leikola J**, Koljonen V, Valanne L, Hukki J (2010). The incidence of Chiari malformation in nonsyndromic, single suture craniosynostosis. Child's Nervous System 26: 771–774.

**Lewis AB**, Roche AF, Wagner B (1985). Pubertal spurts in cranial base and mandible. Comparisons within individuals. Angle Orthodontist 55: 17–30.

**Lekovic GP**, Bristol RE, Rekate HL (2004). Cognitive impact of craniosynostosis. Seminars in Pediatric Neurology 11: 305-310.

**Li S**, Quarto N, Longaker MT (2010). Activation of FGF signaling mediates proliferative and osteogenic differences between neural crest derived frontal and mesoderm parietal derived bone. Plos one 5: 14033.

**Liebich HG** (2010). Funktionelle Histologie der Haussäugetiere. 5. Auflage, Stuttgart: Schattauer, 82-97.

**Liu YH**, Kundu R, Wu L, Luo W, Ignelzi MA Jr, Snead ML, Maxson RE Jr. (1995). Premature suture closure and ectopic cranial bone in mice expressing Msx2 transgenes in the developing skull. Proceedings of the National Academy of the United States of America 92:6137– 6141.

**Liu YH**, Tang Z, Kundu RK, Wu L, Luo W, Zhu D, Sangiorgi F, Snead ML, Maxson RE (1999). Msx2 gene dosage influences the number of proliferative osteogenic cells in growth centers of the developing murine skull: a possible mechanism for MSX2-mediated craniosynostosis in humans. Developmental Biology 205:260–274.

**Lu D**, Lamb CR, Pfeiffer DU, Targett MF (2003). Neurological signs and results of magneticresonance imaging in 40 cavalier King Charles spaniels with Chiari type1-like malformations. *Veterinary Record* 153:60– 63.

**Luo G**, Hofmann C, Bronckers AL, Sohocki M, Bradley A, Karsenty G (1995). BMP-7 is an inducer of nephrogenesis, and is also required for eye development and skeletal patterning. *Genes and Development* 9:2808–20.

**Lüps P** und Huber W (1968). Biometrische Analyse des Barsoi-Schädels. *Arch. Jul. Klaus-Stiftung* 43: 1-8.

**Lorenz K** (1943). Die angeborenen Formen möglicher Erfahrung. *Zeitschrift für Tierpsychologie* 5: 94–125.

**Lynnerup**, N. & Jacobsen, J. C (2003). Brief communication: age and fractal dimensions of human sagittal and coronal Sagittal suture of the human cranium and the time of closing sutures. *American Journal of Physical Anthropology* 121(4): 332-6.

**Macatee TL**, Hammond BP, Arenkiel BR, Francis L, Frank DU, Moon AM (2003). Ablation of specific expression domains reveals discrete functions of ectoderm- and endoderm-derived FGF8 during cardiovascular and pharyngeal development. *Development* 130:6361–6374.

**Martínez S**, Fajardo R, Valdés J, Ulloa-Arvizu R und Alonso R (2007). Histopathologic study of long-bone growth plates confirms the basset hound as an osteochondrodysplastic breed. *The Canadian Journal of Veterinary Research* 71: 6669.

**Martínez S**, Valdés J und Alonso RA (2000). Achondroplastic dog breeds have no mutations in the transmembrane domain of the FGFR-3 gene. *The Canadian Journal of Veterinary Research* 64: 243-245.

**Mao JJ** und Nah HD (2004). Growth and development: hereditary and mechanical modulations. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics* 125: 676-689.

**Meindl RS and Lovejoy C** (1985). Ectocranial suture closure: a revised method for the determination of skeletal age at death based on the lateral-anterior sutures. *American Journal of Physical Anthropology* 68: 57-66.

**Miller WH, Griffin CE, Campbell KL** (2013). *Muller and Kirk's Small Animal Dermatology*, Elsevier. 7th ed., 678-690.

**Moening A**, Jager R, Egert A, Kress W, Wardelmann E, Schorle H (2009). Sustained platelet-derived growth factor receptor alpha signaling in osteoblasts results in craniosynostosis by overactivating the phospholipase C-gamma pathway. *Molecular and Cellular Biology* 29: 881-891.

**Molsted K**, Kjaer I, Dahl E (1993). Spheno-occipital synchondrosis in three-month-old children with clefts of the lip and palate: a radiographic study. *Cleft Palate- Craniofacial Journal* 30: 569-73.

**Montavon PM** (2000). Le syndrome brachycephalique. *Proceedings 1ères rencontres Franco-Suisses, Lausanne (Abstract)*.

**Morriss-Kay GM** und Wilkie AOM (2005). Growth of the normal skull vault and its alteration in craniosynostosis: insights from human genetics and experimental studies. *Journal of Anatomy* 207: 637-653.

**Mooney MP**, Losken HW, Moursi AM, Bradley J, Azari K, Acarturk TO, Cooper GM, Thompson B, Opperman LA, Siegel MI (2007). Anti-TGF-beta2 antibody therapy inhibits postoperative resynostosis in craniosynostotic rabbits. *Plastic and Reconstructive Surgery* 119: 1200-1215.

**Müller U**, Steinberger D, Kunze S (1997). Molecular genetics of craniosynostotic syndromes. *Graefe's Archiv for Clinical and Experimental Ophtalmology* 1997: 1-6.

**Müller F** und O'Rahilly R (1980). The human chondrocranium at the end of the embryonic period, proper, with particular reference to the nervous system. *American Journal of Anatomy* 159: 33-58.

**Moss ML und Young RW** (1960). A functional approach to craniology. *American Journal of Physical Anthropology* 18: 281-292.

**Moss ML** (1960). Inhibition and stimulation of sutural fusion in the rat calvaria. *Anatomical Record* 136: 457–467.

**Nakamura Y**, Noda K, Kuwahara Y, Minyeong L, Tanaka S, Kawasaki K und Kobayashi K (1999). Magnetic resonance images and histology of the sphenoccipital synchondrosis in young monkeys (*Macaca fuscata*). *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics* 115: 138-142.

**Nickel R**, Schummer A, Seiferle E, Frewein J und Wille KH (2004a). *Lehrbuch der Anatomie der Haustiere. Band 1: Bewegungsapparat*. 8. unveränderte Auflage, Berlin, Hamburg: Verlag Paul Parey, 128-186.

**Njikam IN**, Huault M, Pirson V, Detilleux J (2009). The Influence of Phylogenic Origin on the Occurrence of Brachycephalic Airway Obstruction Syndrome in a Large Retrospective Study. *The International Journal of Applied Research in Veterinary Medicine* 7: 138–143.

**Nishikawa M**, Sakamoto H, Hakuba A, Nakanishi N, Inoue Y (1997). Pathogenesis of Chiari malformation: a morphometric study of the posterior cranial fossa. *Journal of Neurosurgery* 86: 40–47.

**Noden DM**, Trainor PA (2005). Relations and interactions between cranial mesoderm and neural crest populations. *Journal of Anatomy* 207: 575-601.

**Nöller C**, Hueber J, Aupperle H, Seeger J, Oechtering TH, Niestrock C und Oechtering GU (2008). New aspects of brachycephalia in dogs and cats - basics: insights into embryology, anatomy and pathophysiology. *ACVIM Forum, San Antonio, TX, USA* 04.06.-07.06. (Abstract).

**Noudeh R**, Jovenin N, Eap C, Scherpereel B, Pierot L, Rousseaux P (2009). Incidence of basioccipital hypoplasia in Chiari malformation type I: comparative morphometric study of the posterior cranial fossa. Clinical article. *Journal of Neurosurgery* 111: 1046–1052.

**Nussbaumer M** (1978). Biometric analysis of the skull base in small and medium sized dogs. *Zeitschrift für Tierzucht und Züchtungsbiologie* 95: 1–14.

**Okamoto K**, Ito J, Tokiguchi S und Furusawa T (1996). High-resolution CT findings in the development of the sphenoccipital synchondrosis. *American Journal of Neuroradiology* 17: 117-120.

**Ogle RC**, Tholpady SS, et al. (2004). Regulation of cranial suture morphogenesis. *Cells Tissues and Organs* 176: 54–66.

**Omim** (2007). Online mendelian inheritance in man. Johns Hopkins University, Baltimore, MD.

**Onar V** und Günes H (2003). On the variability of skull shape in German shepherd (alsatian) puppies. *The Anatomical Record Part A* 272: 460-466.

**Oppenheimer AJ**, Rhee ST, Goldstein SA, Buchman SR (2009). Force-induced craniosynostosis in the murine sagittal suture. *Plastic and Reconstructive Surgery* 124: 1840-1848.

**Opperman LA**, Sweeney TM, Redmon J, Persing JA, Ogle RC. (1993). Tissue interactions with underlying dura mater inhibit osseous obliteration of developing cranial sutures. *Developmental Dynamics* 198: 312–322.

**Opperman LA**, Passarelli RW, Morgan EP, Reintjes M, Ogle RC. (1995). Cranial sutures require tissue interactions with dura mater to resist osseous obliteration in vitro. *Journal of Bone and Mineral Research* 10: 1978 –1987.

**Opperman LA**, Passarelli RW, Nolen AA, Gampper TJ, Lin KY, Ogle RC (1996). Dura mater secretes soluble heparin-binding factors required for cranial suture morphogenesis. *In Vitro Cellular and Developmental Biology* 32: 627– 632.

**Opperman LA** (2000). Cranial sutures as intramembranous bone growth sites. *Developmental Dynamics* 219: 472-485.

**Oppermann LA**, Adab K, Gakunga PT (2000). Transforming growth factor  $\beta$ 2 and TF- $\beta$ 3 regulate fetal rat cranial suture morphogenesis by regulating rates of cell proliferation and apoptosis. *Developmental Dynamics* 219: 237-247.

**Packer RMA**, Hendricks A, Burn CC (2012). Do dog owners perceive the clinical signs related to conformational inherited disorders as 'normal' for the breed? A potential constraint to improving canine welfare. *Animal Welfare* 21: 81–93.

**Packer RMA**, Hendricks A, Burn CC (2015). Impact of Facial Conformation on Canine Health: Corneal Ulceration. Plos one 10: e0123827.

**Passos-Bueno MR**, Serti Eacute AE, Jehee FS, Fanganiello R, Yeh E (2008). Genetics of craniosynostosis: genes, syndromes, mutations and genotype-phenotype correlations. Frontiers of Oral Biology 12: 107–143.

**Patton MA**, Goodship J, Hayward R, Lansdown R (1988) Intellectual development in Apert's syndrome: a long term follow-up of 29 patients. Journal of Medical Genetics 25:164–167

**Plomp AS**, Hamel BCJ, Cobben JM, Verloes A, Offermans JPM, Lajeunie E, Fryns JP, de Die-Smulders CEM (1998). Pfeiffer syndrome type 2: further delineation and review of the literature. American Journal of Medical Genetics 75: 245–51.

**Poncet CM**, Dupre GP, Freiche VG, Estrada MM, Poubanne YA, Bouvy BM (2005). Prevalence of gastrointestinal tract lesions in 73 brachycephalic dogs with upper respiratory syndrome. Journal of Small Animal Practice 46: 273–279.

**Pollack IF.**, Losken HW & Fasick P (1997). Diagnosis and management of posterior plagiocephaly. Pediatrics 99(2):180-5.

**Pollinger JP**, Bustamante CD, Fledel-Alon A, Schmutz S, Gray MM und Wayne RK (2005). Selective sweep mapping of genes with large phenotypic effects. Genetic Research 15: 1809-1819.

**Powell TV und Brodie AG** (1963). Closure of the spheno-occipital synchondrosis. Anatomical Record 147: 15-23.

**Pirinen S**, Majurin A, Lenko HL, Koski K (1994). Craniofacial features in patients with deficient and excessive growth hormone. Journal of Craniofacial Genetics and Developmental Biology 14:144–52.

**Proudman TW**, Clark BE, Moore MH, Abbott AH, David DJ (1995). Central nervous system imaging in Crouzon's syndrome. Journal of Craniofacial Surgery 6: 401–405.

**Psychrembel** klinisches Wörterbuch (2011). 260. Auflage. Verlag Walter de Gruyter, Berlin.

**Quarto N**, Wan DC, Kwan MD, Panetta NJ, Li S, Longaker MT (2010). Origin matters: differences in embryonic tissue origin and Wnt signaling determine the osteogenic potential and healing capacity of frontal and parietal calvarial bones. *Journal of Bone and Mineral Research* 25: 1680–1694.

**Raff RA**, Wray GA (1989). Heterochrony: Developmental mechanisms and evolutionary results. *Journal of Evolutionary Biology* 2: 409-434.

**Rager L**, Hautier L, Forasiepi A, Goswami A, Sanchez-Villagara MR (2014). Timing of cranial suture closure in placental mammals: Phylogenetic patterns, intraspecific variation, and comparison with marsupials. *Journal of Morphology* 275: 125-140.

**Raybaud C**, Girard N (2005). Malformations of the telencephalic commissures. In: Tortori-Donati P, Rossi A, Biancheri R. *Pediatric neuroradiology*. Springer, Berlin, 41–69.

**Regelsberger J**, P. Milovanovic P, Schmidt T, Hahn M, Zimmermann EA, Tsokos M, Zustin J, Ritchie RO, Amling M and Busse B (2012). Changes to the cell, tissue and architecture levels in cranial suture synostosis reveal a problem of timing in bone development. *European Cells and Materials* 24: 441-458.

**Regodón S**, Vivo JM, Franco A, Guillén MT und Robina A (1993). Craniofacial angle in dolicho-, meso- and brachycephalic dogs: radiological determination and application. *Annals of Anatomy* 175: 361-363.

**Reiss K**, Mentlein R, Sievers J, et al. (2002). Stromal cell-derived factor 1 is secreted by meningeal cells and acts as chemotactic factor on neuronal stem cells of the cerebellar external granular layer. *Neuroscience* 115: 295–305.

**Rice DP**, Aberg T, Chan Y, Tang Z, Kettunen PJ, Pakarinen L, Maxson RE, Thesleff I (2000). Integration of FGF and TWIST in calvarial bone and suture development. *Development* 127: 1845–1855.

**Rice D**, Rice R, Thesleff I (2003). Molecular mechanisms in calvarial bone and suture development, and their relation to craniosynostosis. *European Journal of Orthodontics* 25(2): 139–148.

**Rich PM**, Cox TC, Hayward RD (2003). The jugular foramen in complex and syndromic craniosynostosis and its relationship to raised intracranial pressure. *American Journal of Neuroradiology* 24: 45–51.

**Richtsmeier JT**, Aldridge K, DeLeon VB, Panchal J, Kane AA, Marsh JL, Yan P und Cole TM (2006). Phenotypic integration of neurocranium and brain. *Journal of Experimental Zoology. Part B, Molecular and Developmental Evolution* 306(4): 360-378.

**Roberts T**, McGreevy P und Valenzuela M (2010). Human induced rotation and reorganization of the brain of domestic dogs. *Plos one* 5(7): 1-7.

**Robin NH**, Scott JA, Arnold JE, Goldstein JA, Shilling BB, Marion RW, Cohen MM Jr (1998). Favorable prognosis for children with Pfeiffer syndrome types 2 and 3: implication for classification. *American Journal of Medical Genetics* 75: 240–244.

**Robson CD**, Mulliken JB, Robertson RL, Proctor MR, Steinberger D, Barnes PD, et al (2000). Prominent basal emissary foramina in syndromic craniosynostosis: correlation with phenotypic and molecular diagnoses. *American Journal of Neuroradiology* 21: 1707–1717.

**Roybal PG**, Wu NL, Sun J, Ting MC, Schafer CA, Maxson RE (2010). Inactivation of *Msx1* and *Msx2* in neural crest reveals an unexpected role in suppressing heterotopic bone formation in the head. *Developmental Biology* 343: 28–39.

**Roth DA**, Bradley JP, Levine JP, McMullen HF, McCarthy JG, Longaker MT (1996). Studies in cranial suture biology: II. Role of the dura in cranial suture fusion. *Plastic Reconstructive Surgery* 97: 693– 699.

**Rüsse I** und Sinowatz F (1998). *Lehrbuch der Embryologie der Haustiere*. 2. Auflage, Berlin: Parey Buchverlag, 379-394.

**Sabini RC** & Elkowitz DE (2006). Significance of differences in patency among cranial sutures. *Journal of American Osteopathic Association* 106(10): 600-4.

**Sahni D.**; Jit I.; Neelam, & Sanjeev I (2005). Time of closure of cranial sutures in northwest Indian adults. *Forensic Science International* 148 (2-3): 199-205.



**Sarkar S**, Petiot A, Copp A, et al. (2001). FGF2 promotes skeletogenic differentiation of cranial neural crest cells. *Development* 128: 2143–2152.

**Satokata I**, Ma L, Ohshima H, Bei M, Woo I, Nishizawa K, Maeda T, Takano Y, Uchiyama M, Heaney S, Peters H, Tang Z, Maxson R, Maas R (2000). Msx2 deficiency in mice causes pleiotropic defects in bone growth and ectodermal organ formation. *Nature Genetics* 24: 391–395.

**Schmidt MJ**, Neumann AC, Amort KH, Failing K und Kramer M (2011). Cephalometric measurements and the determination of general skull type of Cavalier King Charles spaniels. *Veterinary Radiology and Ultrasound* 52(4): 436-440.

**Schmidt MJ**, Volk H, Klingler M, Failing K, Kramer M, Ondreka N (2013). Comparison of cranial base synchondrosis in Cavalier King Charles Spaniels, brachycephalic and mesaticephalic dogs. *Veterinary Radiology and Ultrasound* 54(5): 497-503.

**Schmidt MJ**, Laubner S, Kolečka M, Failing K, Moritz A, Kramer M, Ondreka N (2015). Comparison of the relationship between cerebral white matter and grey matter in normal dogs and dogs with lateral ventricular enlargement. *Plos one* 10(5): e0124147.

**Schnorr B** und Kressin M (2006). *Embryologie der Haustiere*. 5. Auflage, Stuttgart: Enke Verlag, 227-230.

**Schoenebeck JL**, Hutchinson SA, Byers A, Beale HC, Carrington B, Faden DL, Rimbault M, Decker B, Kidd JM, Sood R, Boyko AR, Fondon JW, Wayne RK, Bustamante CD, Ciruna B und Ostrander EA (2012). Variation of BMP3 contributes to dog breed skull diversity. *Plos Genetics* 8(8): 1-11.

**Schröder H**, Meyer Lindenberg A, Noltel (2006). Comparative examination of the lateral cerebral ventricles of different dog breeds using quantitative computedtomography. *Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift* 119: 506–511.

**Sears KE**, Goswami A, Flynn JJ und Niswander LA (2007). The correlated evolution of Runx2 tandem repeats, transcriptional activity, and facial length in carnivora. *Evolution and Development* 9(6): 555-565.

**Seiferle E** (1966). Zur Topographie des Gehirns bei lang- und kurzköpfigen Hunderassen. *Acta Anatomica* 63: 346-362.

**Senerath-Yapa K**, Li S, Meyer NP, Longaker MT, Quarto N (2013). Integration of multiple signaling pathways determines differences in the osteogenic potential and tissue regeneration of neural crest-derived and mesoderm-derived calvarial bones. *International Journal of Molecular Science* 14: 5978-5997.

**Shen K**, Krakora SM, Cunningham M, Singh M, Wang X, Hu FZ, Post JC, Ehrlich GD (2009). Medical treatment of craniosynostosis: recombinant Noggin inhibits coronal suture closure in the rat craniosynostosis model. *Orthodontics and Craniofacial Research* 12: 254–262.

**Shirley NR und Jantz RL** (2011). Spheno-occipital synchondrosis fusion in modern Americans. *Journal of Forensic Science* 56(3): 580-585.

**Shipster C**, Hearst D, Somerville A, Stackhouse J, Hayward R, Wade A (2003). Speech, language, and cognitive development in children with isolated sagittal synostosis. *Developmental Medicine and Child Neurology* 45: 34-43.

**Shum L**, Wang X, Kane AA, Nuckolls GH (2003). BMP4 promotes chondrocyte proliferation and hypertrophy in the endochondral cranial base. *International Journal of Developmental Biology* 47: 423–31.

**Skrzat J**, Walocha J, Zawilinski J (2004). A note on the morphology of the metopic suture in the human skull. *Folia Morphologica* 63 (4): 482-484.

**Slater BJ**, Liu KJ, Kwan MD, Quarto N, Longacker MT (2009). Cranial osteogenesis and suture morphology in *Xenopus laevis*: a unique model system for studying craniofacial development, *Plos One* 4(1): e3914.

**Smith DW**, Tondury G (1978). Origin of the calvaria and its sutures. *American Journal of Diseases of Children* 132: 662–666.

**Smith DR.**; Limbird KG & Hoffman JM (2002). Identification of human skeletal remains by comparison of bony details of the cranium using computerized tomographic scans. *Journal of Forensic Science* 47(5): 937-9.

**Stanley ER**, Das SK (1982). Structure–function studies of a colony stimulating factor (CSF-1) *Journal of Biological Chemistry* 257: 13679–13684.

**Stockard CR** (1941). The genetic and endocrinic basis for differences in form and behavior. *American Anatomical Memories* 19: 153-195.

**Strahle J**, Muraszko KM, Buchman S, Kapurch J, Garton H, O. Maher C (2011). Chiari malformation associated with craniosynostosis. *Neurosurgical Focus* 31(3): e2.

**Szabo-Rogers HL**, Geetha-Loganathan P, Nimmagadda S, Fu KK, Richman JM (2008). FGF signals from the nasal pit are necessary for normal facial morphogenesis. *Developmental Biology* 318: 289–302.

**Taylor WJ**, Hayward RD, Lasjaunias P, Britto JA, Thompson DN, Jones BM, et al (2001). Enigma of raised intracranial pressure in patients with complex craniosynostosis: the role of abnormal intracranial venous drainage. *Journal of Neurosurgery* 94: 377–385.

**Ten Donkelaar HJ**, Lammens M, Wesseling P, Hori A, Keyser A, Roteveel J (2004). Development and malformations of the human pyramidal tract. *Journal of Neurology* 251: 1429–1442.

**Thompson DN**, Harkness W, Jones BM, Hayward RD (1997). Aetiology of herniation of the hindbrain in craniosynostosis. An investigation incorporating intracranial pressure monitoring and magnetic resonance imaging. *Pediatric Neurosurgery* 26: 288–295.

**Tokumaru AM**, Barkovich AJ, Ciricillo SF, Edwards MSB (1996). Skull base and calvarial deformities: association with intracranial changes in craniofacial syndromes. *Am J Neuroradiol* 17: 619–630.

**Towler DA**, Rutledge SJ, Rodan GA (1994). Msx-2/Hox8.1: a transcriptional regulator of the rat osteocalcin promoter. *Molecular Endocrinology* 8: 1484–1493.

**Tracy RP**, Mann KG. (1991). Osteonectin. In: Hall BK, editor. *Bone*. Boca Raton: CRC Press, 295–320.

**Tsang M**, Dawid IB (2004). Promotion and attenuation of FGF signaling through the Ras-MAPK pathway. *Science Signaling* 228: 17.

**Tyler MS** (1983). Development of the frontal bone and cranial meninges in the embryonic chick: an experimental study of tissue interactions. *Anatomical Record* 206: 61-70.

**Van der REST M.** (1991). The collagens of bone. In: Hall BK, editor. *Bone*. Boca Raton: CRC Press, 187–238.

**Van der VLUGT JJB**, van der Meulen J, Creemers HE, Willemse SP, Lequin ML, Okkerse JME (2009). The risk of psychopathology in children with craniosynostosis. *Plastic and Reconstructive Surgery* 124: 2054-2060.

**Venes JL** (1988). Arnold-Chiari malformation in an infant with Kleeblattschadel: an acquired malformation? *Neurosurgery* 23: 360–362.

**Voss M**, Schröder B, Fluhrer R (2013). Mechanism, specificity and physiology of signal peptide peptidase (SPP) and SPP-like proteases. *Biochimica et Biophysica Acta* 1828: 2828-2839.

**VulloT**, Korenman E, Manzo RP, Gomez DG, Deck MD, Cahill PT (1997). Diagnosis of cerebral ventriculomegaly in normal adult beagles using quantitative MRI. *Veterinary Radiology and Ultrasound* 38: 277–281.

**Warren SM**, Brunet LJ, Harland RM, Economides AN, Longaker MT (2003). The BMP antagonist noggin regulates cranial suture fusion. *Nature*. 422: 625–629.

**Wiestner TS**, Koch DA, Nad N, Balli A, Roos M, Weilenmann R, et al. (2007). Evaluation of the repeatability of rhinomanometry and its use in assessing transnasal resistance and pressure in dogs. *American Journal of Veterinary Research* 68: 178–184.

**William F. Perrin, J. G. M** (2009). The Encyclopedia of Marine Mammals. In: *Skull Anatomy* Elsevier 21: 1033–1047.

**Wilkie AO**, Tang Z, Elanko N, Walsh S, Twigg SR, Hurst JA, Wall SA, Chrzanowska KH, Maxson RE Jr (2000). Functional haploinsufficiency of the human homeobox gene *MSX2* causes defects in skull ossification. *Natural Genetics* 24: 387–390.

**Wilkie AO**, Morriss-Kay GM (2001). Genetics of craniofacial development and malformation. *Nature Reviews Genetics* 2: 458–468.

**Wykes PM** (1991). Brachycephalic airway obstructive syndrome. *Problems in Veterinary Medicine* 3: 188–197.

**Yacubian-Fernandes A**, Palhares A, Giglio A, Gabarra RC, Zanini S, Portela L, Silva MV, Perosa GB, Abramides D, Plese JPP (2005). Apert syndrome: factors involved in the cognitive development. *Arquivos Neuro-Psiquiatria* 63: 963–968.

**Yoshida T**, Phylactou LA, Uney JB, et al. (2005). Twist is required for establishment of the mouse coronal suture. *Journal of Anatomy* 206: 437–444.

**Zhao H**, Feng J, Ho T-V, Grimes W, Urata M, Chai Y (2015). The suture provides a niche for mesenchymal stem cells of craniofacial bones. *Nature Cell Biology* 17(4): 386-396.

**Zhu Y**, Yu T, et al. (2003). Role of the chemokine SDF-1 as the meningeal attractant for embryonic cerebellar neurons. *Nature Neuroscience* 5: 719– 720.



*édition scientifique*  
**VVB LAUFERSWEILER VERLAG**

**VVB LAUFERSWEILER VERLAG**  
**STAUFENBERGRING 15**  
**D-35396 GIESSEN**

Tel: 0641-5599888 Fax: -5599890  
redaktion@doktorverlag.de  
www.doktorverlag.de

ISBN: 978-3-8359-6639-0



9 78 3 835 19 6639 0